



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2009

Ângelo Miguel Correia Salvador **Efeito de alta pressão no processo de demolha de bacalhau**



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2009

**Ângelo Miguel Correia
Salvador**

**Efeito de alta pressão no processo de demolha de
bacalhau**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica e Química dos Alimentos, realizada sob a orientação científica do Doutor Jorge Saraiva, Investigador Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e da Doutora Ivonne Delgadillo, Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Dedico este trabalho aos meus pais, irmão e namorada.

o júri
presidente

Prof. Doutor Manuel António Coimbra Rodrigues da Silva
professor associado com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva
investigador auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof^a. Doutora Ivonne Delgadillo Giraldo
professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor António Augusto Martins de Oliveira Soares Vicente
professor auxiliar do Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho

agradecimentos

Ao Professor Doutor Jorge Saraiva, pelo apoio e dedicação incansável que partilhou ao longo deste trabalho, e também por todos os conhecimentos que me transmitiu.

À Professora Doutora Ivonne Delgadillo, pela orientação e ensinamentos que me transmitiu ao longo de todo o meu percurso académico.

Aos meus colegas de laboratório, que me ajudaram a desenvolver este e outros trabalhos, especialmente à Isabel pela amizade e companheirismo demonstrado.

Agradeço especialmente aos meus amigos Nuno, Reis, Patinha, Diogo, Djeni e Mickael que desde sempre me apoiaram. A estes queria desejar um profundo obrigado.

Aos meus pais um agradecimento eterno, ao suporte e apoio que me deram em prol do meu sucesso académico e pessoal.

À minha namorada que sempre me apoiou.

palavras-chave

Bacalhau, *Gadus morhua*, sal, demolha, alta pressão hidrostática, transferência de massa.

resumo

Este trabalho experimental teve como objectivo recorrer à tecnologia de alta pressão hidrostática com o intuito de acelerar o processo de demolha de bacalhau, em termos de saída de sal e entrada de água.

Inicialmente tentou-se desenvolver uma metodologia rápida para quantificação do NaCl mediante condutivimetria. Contudo, como se verificaram diferenças entre os resultados obtidos por este método e o método químico usado neste trabalho, a quantificação do sal por condutivimetria foi apenas usada para determinar o tempo a que a demolha demorava a atingir o equilíbrio.

Estudou-se o efeito de diferentes temperaturas à pressão atmosférica, concluindo-se que a temperatura tem pouco efeito na velocidade de difusão da água e do sal e no conteúdo difundido. O conteúdo inicial de NaCl e H₂O tem mais efeito no conteúdo final que a temperatura. Também se estudou o efeito da razão volume de água de demolha/volume de amostra (α), concluindo-se que menores valores de α promovem demolhas mais rápidas mas com um conteúdo de sal maior (55% m/m) e água menor (28% m/m) no equilíbrio.

As difusividades do sal e da água aumentam linearmente entre 0,1 MPa (pressão atmosférica) até 200 MPa, sendo, respectivamente, superiores 165 e 497 vezes a 200 MPa em relação à pressão atmosférica. Esta situação leva a que o equilíbrio osmótico seja atingido muito rapidamente (cerca de 3 minutos). Contudo, entre 50 e 200 MPa, o sal e a água difundidas foi, respectivamente, de apenas 47 a 72% e 37 a 47%, em relação à pressão atmosférica. A 300 MPa verificou-se uma diminuição significativa das difusividades.

O factor α influencia a demolha, particularmente o estado de equilíbrio e os conteúdos difundidos, com valores superiores de α a permitirem conteúdos de sal inferiores e de água superiores no bacalhau. Uma situação semelhante ocorre com o efeito da temperatura, com temperaturas superiores a promoverem conteúdos difundidos superiores.

O equilíbrio osmótico sob pressão é atingido para valores superiores de sal e inferiores de água no bacalhau, relativamente à demolha à pressão atmosférica. A hipótese que pode explicar esta situação é a compressão da água de demolha no bacalhau, que leva à concentração da solução de demolha e aumento da sua pressão osmótica. Esta hipótese foi testada, colocando uma amostra de bacalhau que tinha atingido o equilíbrio osmótico sob pressão a demolhar na mesma solução à pressão atmosférica mais 6 horas, para garantir que se atingia o equilíbrio osmótico. Os resultados indicaram que esta amostra atingia um equilíbrio osmótico similar às amostras demolhadas à pressão atmosférica, suportando a hipótese formulada. Esta mesma explicação poderá aplicar-se para a diminuição das difusividades verificada a 300 MPa.

keywords

Cod, *Gadus morhua*, salt, desalting, high hydrostatic pressure, mass transfer.

abstract

The aim of this work was the use of high hydrostatic pressure in order to accelerate the desalting process of cod fish, in terms of salt and water diffusion. Initially, it was tried to develop a methodology for a rapid quantification of NaCl by conductivity. Since there were differences between the obtained results by this method and the chemical standard method, the quantification of salt using conductivity was only used to determine when the desalting reached the equilibrium.

The effect of different temperatures at atmospheric pressure on the desalting process was studied. The results indicated that the temperature has a little effect on the rate of the diffusion of water and salt and on the water and salt diffused content. The initial content of NaCl and H₂O showed to have a higher effect on the final water and salt content than the temperature used. The ratio of volume of desalting water/volume of sample (α) was also studied. Lower values of α led to faster desalting processes but with a higher salt content (55% w/w) and lower water content (28% w/w) at the equilibrium in the cod fish.

The diffusivities of the salt and water increased linearly between 0,1 MPa (atmospheric pressure) and 200 MPa, being, respectively, 165 and 497-fold higher at 200 MPa, when comparing with atmospheric pressure. This situation leads to a very fast osmotic equilibrium (about 3 minutes). However, between 50 and 200 MPa, only 47 to 72% of salt and 37 to 47% of water diffused, in relation to atmospheric pressure. At 300 MPa, there was a significant decrease of the both diffusivities.

The value of α influence particularly the equilibrium state and the salt and water diffused content, with higher values of α leading to a lower salt content and a higher water content in the cod fish. A similar situation occurs with higher temperatures, which promoted higher diffused contents.

The osmotic equilibrium under pressure is obtained for higher salt values and lower water values in the cod, in comparison to desalting at atmospheric pressure. An hypothesis that can explain this situation is the compression of the water under pressure, which leads to the concentration of the desalting solution and increasing of its osmotic pressure. This hypothesis was tested, placing a cod sample that reached the osmotic equilibrium under pressure, desalting at atmospheric pressure for more 6 hours, to ensure that the osmotic equilibrium could be reached. The results showed that the sample reached an osmotic equilibrium similar to the samples desalted at atmospheric pressure, supporting the proposed hypothesis. This explanation can also explain the decrease of the diffusivities at 300 MPa, since at this pressure water compression is more pronounced.

Índice

Lista de abreviaturas	III
Índice de figuras	IV
Índice de tabelas	VI
Parte I. Revisão Bibliográfica.....	1
1.1. Bacalhau salgado.....	1
1.1.1. Características gerais do bacalhau	2
1.1.2. Salga do bacalhau	6
1.1.3. Aspectos bioquímicos da salga do bacalhau	9
1.1.4. Demolha de bacalhau	12
1.1.5. Aspectos microbiológicos e bioquímicos da demolha de bacalhau.....	13
1.2. Tecnologia de Alta Pressão.....	14
1.2.1. State of the art – Efeito da alta pressão em alimentos	14
1.2.2. Equipamento de Alta-pressão.....	16
1.2.3. Efeito da alta pressão em bacalhau	17
1.2.4. Redução do tempo da demolha de bacalhau	21
1.3. Transferência de massa – teoria	22
1.4. Objectivos	24
Parte II. Metodologia	25
2.1. Preparação amostras de bacalhau	25
2.2. Operação da demolha de bacalhau	25
2.3. Determinação do conteúdo de H ₂ O	25
2.4. Determinação actividade da água (a _w).....	26
2.5. Estimativa da quantidade de NaCl pelo método condutivimétrico	26
2.6. Determinação do conteúdo de NaCl pelo método químico	27
2.7. Tratamentos de alta pressão	27
Parte III. Resultados e Discussão.....	29
3.1. Ensaio preliminares.....	29
3.1.1. Quantificação de NaCl por condutividade	29
3.1.2. Comparação entre o método químico e o método condutivimétrico em amostras de bacalhau.....	32
3.2. Estudo da demolha de bacalhau à pressão atmosférica	33
3.2.1. Efeito da temperatura no processo de demolha de bacalhau.....	33
3.2.2. Efeito do α no processo de demolha de bacalhau à pressão atmosférica.....	43
3.3. Estudo da demolha de bacalhau sob pressão	46
3.3.1. Efeito da alta pressão de 50 a 300 MPa e $\alpha=2$	46
3.3.1.1. 50 MPa	47
3.3.1.2. 100 MPa.....	48
3.3.1.3. 200 MPa.....	49
3.3.1.4. 300 MPa.....	50
3.3.1.5. Comparação da demolha a 50, 100, 200 e 300 MPa com a pressão atmosférica 51	
3.3.2. Efeito do factor α sob alta pressão	54
3.3.3. Efeito da temperatura sob pressão a 100MPa	57
3.3.4. Efeito do α a 12,5 e 20,0°C sob alta pressão	60
3.4. Equilíbrio sob pressão versus equilíbrio à pressão atmosférica.....	60

3.5. Comparação entre coeficientes de difusão obtidos pelo modelo não-linear e pelo modelo linear.....	63
Parte IV. Conclusão.....	65
Bibliografia	67
Anexos	71

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Designação
ΔM	Variação de massa total
ΔM^{NaCl}	Variação de massa de NaCl
ΔM^{H_2O}	Variação de massa de H ₂ O
0, t, ∞	Tempo de demolha inicial, tempo t e no equilíbrio (min)
a, b, c	Medida dos lados do paralelepípedo (cm)
aw	Actividade da água
D _{es}	Coefficiente de difusividade efectiva para o NaCl (m ² /s)
D _{ew}	Coefficiente de difusividade efectiva para a H ₂ O (m ² /s)
F _o	Número de Fourier
h	Hora
m	Conteúdo de água (gH ₂ O/ gSI)
min	Minuto
Mr	Rácio de água difundida
Patm	Pressão atmosférica
s	Conteúdo de NaCl (gNaCl/ gSI)
SI	Sólidos insolúveis
Sr	Rácio de NaCl difundido
TMA-N	Trimetilamina
TMAO-N	Óxido de trimetilamina
TVB-N	Voláteis totais nitrogenados
Va	Volume de activação
VRS	Substâncias redutoras voláteis
α	Volume da água de demolha/ Volume da amostra

Índice de figuras

Figura 1 – Fotografia de um bacalhau da espécie de <i>Gadus morhua</i> (fonte: <i>fishbase</i> , 2009 ³)	2
Figura 2 – Esquema representativo das diferentes regiões do sarcómero (reproduzido de Lauritzsen, 2004 ²)	4
Figura 3 – Alterações da qualidade do bacalhau durante o armazenamento em gelo (reproduzido de Belitz H. D., 2004 ⁶)	5
Figura 4 – Diferentes processos de conservação de peixe, adaptado de Belitz H. D., 2004 ⁶	7
Figura 5 – Velocidade relativa das reacções de oxidação lipídicas, acastanhamento não enzimático e actividade enzimática em função da actividade da água (reproduzido de Lauritzsen, K., 2004 ²)	12
Figura 6 – Aparelho de Alta pressão da Universidade de Aveiro, utilizado no trabalho experimental	16
Figura 7 – Microscopia electrónica de transmissão de amostras de peito de peru; a – amostra não processada; b- salga durante 2 h à pressão atmosférica; c- salga durante 15 min a 150 MPa; d- salga durante 15 min a 300 MPa. Utilizando uma solução salina de 50 g/L de NaCl (reproduzido de Balasubramaniam <i>et al.</i> (2007) ²⁸)	19
Figura 8 – Método utilizado para a demolha de bacalhau à pressão atmosférica	25
Figura 9 – Método utilizado para medição da actividade da água	26
Figura 10 – Condutividade em função da concentração de NaCl à temperatura ambiente, a 30,0°C e 40,0°C (em todos os gráficos na tese os pontos representam os valores médios e as barras de erro o desvio padrão, salvo excepções indicadas)	30
Figura 11 – Gama linear da condutividade em função da concentração de NaCl (%)	30
Figura 12 – Correlação da determinação de NaCl entre o método químico e o condutivimétrico	31
Figura 13 – Conteúdo de NaCl determinado pelos métodos condutimétrico e de Volhard	33
Figura 14 – Condutividade relativa em função do tempo de demolha a 4,0, 12,5 e 20,0°C	35
Figura 15 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha a 4,0, a 12,5 e 20,0°C	36
Figura 16 – Rácio NaCl difundido em função do tempo de demolha a 4,0, 12,5 e 20,0°C	36
Figura 17 – Coeficientes de difusão da água (A) e do sal (B) em função da temperatura de demolha	37
Figura 18 – Coeficientes de difusão da água / sal em função do conteúdo inicial de água (A)/ sal (B)	37
Figura 19 – Conteúdo de água (A) e NaCl (B) no equilíbrio em função da temperatura de demolha	39
Figura 20 – Conteúdo de água (A) / NaCl (B) no equilíbrio em função do conteúdo inicial respectivo	39
Figura 21 – Somatório dos balanços de massa para água e sal em função do balanço de massa total	41
Figura 22 – Actividade da água em função do tempo de demolha a 4,0, 12,5 e 20,0°C	42
Figura 23 – Conteúdo de água (gH ₂ O/g SI) em função do tempo de demolha para 4,0, 12,5 e 20,0°C	43
Figura 24 – Actividade da água em função do conteúdo de água para 4,0, 12,5 e 20,0°C	43
Figura 25 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha a 20,0°C	44
Figura 26 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha a 20,0°C	44

Figura 27 – Coeficientes de difusão em função de α	45
Figura 28 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha, a 50 MPa	47
Figura 29 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha, a 50 MPa	47
Figura 30 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha, a 100 MPa	48
Figura 31 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha, a 100 MPa	48
Figura 32 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha, a 200 MPa	49
Figura 33 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha, a 200 MPa	49
Figura 34 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha, a 300 MPa	50
Figura 35 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha, a 300 MPa	50
Figura 36 – Conteúdo de água relativo de 0,1 a 300 MPa em função do tempo de demolha (o gráfico mais pequeno apresenta a gama toda de tempo que decorre a demolha à pressão atmosférica)	51
Figura 37 – Conteúdo de NaCl relativo de 0,1 a 300 MPa em função do tempo de demolha (o gráfico mais pequeno apresenta a gama toda de tempo que decorre a demolha à pressão atmosférica)	51
Figura 38 – Difusividades relativas sob pressão e à pressão atmosférica em função das pressões aplicadas	53
Figura 39 – Rácio de água difundida a 100 MPa, para $\alpha=4$ e $\alpha=2$, em função do tempo de demolha	55
Figura 40 – Rácio de NaCl a 100 MPa, para $\alpha=4$ e $\alpha=2$, em função do tempo de demolha	55
Figura 41 – Rácio de água difundida a 100 MPa, em função do tempo de demolha a diferentes temperaturas	57
Figura 42 – Rácio de NaCl difundido a 100 MPa, em função do tempo de demolha a diferentes temperaturas	58
Figura 43 – Actividade da água em função do tempo de demolha, a 100 MPa	59
Figura 44 – Conteúdo de água em função do tempo de demolha, com combinação de pressão a 20,0 °C (gráfico pequeno apresenta 60 minutos de demolha à pressão atmosférica e 30'' a 12' sob pressão, para melhor visualização)	61
Figura 45 – Conteúdo de NaCl em função do tempo de demolha, com combinação de pressão a 20,0 °C (gráfico pequeno apresenta 60 minutos de demolha à pressão atmosférica e 30'' a 12' sob pressão, para melhor visualização)	61
Figura 46 – Conteúdo de água em função do tempo de demolha, com combinação de pressão a 12,5 °C (gráfico pequeno apresenta 60 minutos de demolha à pressão atmosférica e 30'' a 12' sob pressão, para melhor visualização)	62
Figura 47 – Conteúdo de NaCl em função do tempo de demolha, com combinação de pressão a 12,5 °C (gráfico pequeno apresenta 60 minutos de demolha à pressão atmosférica e 30'' a 12' sob pressão, para melhor visualização)	62
Figura 48 – Número de Fourier para o NaCl em função do tempo de demolha	71
Figura 49 – Número de Fourier para a água em função do tempo de demolha	71

Índice de tabelas

Tabela 1 – Composição de aminoácidos do bacalhau, carne de vaca e caseína do leite em função % total, adaptado de Belitz H. D., 2004 ⁶	3
Tabela 2 – Efeito de alta pressão na textura e estabilidade de proteínas e lípidos de bacalhau fresco adaptado de Angupanich e Ledward (1998) ⁴⁰	20
Tabela 3 – Valores de condutividade, em mS/cm para soluções de NaCl com diferentes concentrações à temperatura ambiente, a 30,0 °C e a 40,0 °C	29
Tabela 4 – Valores do conteúdo de NaCl para os dois métodos em estudo	31
Tabela 5 – Valor da concentração NaCl de duas amostras de bacalhau pelo método condutivimétrico e pelo método químico	32
Tabela 6 – Valores de condutividade para os diferentes tempos de demolha	34
Tabela 7 – Rácio de água e NaCl difundidos durante a demolha a 4,0, 12,5 e 20,0°C	35
Tabela 8 – Coeficientes de difusão e conteúdos iniciais e no equilíbrio para água a diferentes temperaturas (\pm intervalo de variação a 95% de confiança)	37
Tabela 9 – Coeficientes de difusão e conteúdos iniciais e no equilíbrio para a água e NaCl a diferentes temperaturas (\pm intervalo de variação a 95% de confiança)	37
Tabela 10 – Valores dos coeficientes de difusão calculados pelo modelo linear e não linear	38
Tabela 11 – Valores dos balanços de massa total, para NaCl, para H ₂ O, e proteína	40
Tabela 12 – Valores de actividade da água e respectivo conteúdo de água a 4,0, 12,5 e 20,0°C	42
Tabela 13 – Rácio de água e NaCl difundidos durante a demolha a 20,0°C, factor $\alpha=2$	44
Tabela 14 – Coeficientes de difusão e conteúdos iniciais e no equilíbrio para água para $\alpha=2$ e 4	45
Tabela 15 – Coeficientes de difusão e conteúdos iniciais e no equilíbrio para NaCl para $\alpha=2$ e 4	45
Tabela 16 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 50 MPa.....	47
Tabela 17 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 100 MPa.....	48
Tabela 18 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 200 MPa.....	49
Tabela 19 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 300 MPa.....	50
Tabela 20 – Valores dos coeficientes de difusividade efectivos sob pressão e relação destes face ao valor à pressão atmosférica	52
Tabela 21 – Valores do conteúdo de água e NaCl transferidos a diferentes pressões	53
Tabela 22 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 100 MPa, $\alpha=4$	54
Tabela 23 – Valores dos coeficientes de difusão da água a 100 MPa para $\alpha=2$ e $\alpha=4$ e conteúdo de água e sal difundido no equilíbrio para $\alpha=2$, 4, 6 e 8.....	56
Tabela 24 – Valores dos coeficientes de difusão do NaCl a 100 MPa para $\alpha=2$ e $\alpha=4$ e conteúdo de sal difundido no equilíbrio para $\alpha=2$, 4, 6 e 8	56
Tabela 25 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 12,5°C, a 100 MPa, $\alpha=4$	57
Tabela 26 – Valores do coeficiente de difusão da água a 100 MPa e conteúdo de água difundido a 12,5 e a 20,0 °C.....	58
Tabela 27 – Valores do coeficiente de difusão do NaCl a 100 MPa e conteúdo de água difundido a 12,5 e a 20,0 °C.....	58
Tabela 28 – Valores de actividade da água a 12,5 e 20,0°C a 100 MPa, em função do tempo de demolha	59

Tabela 29 – Valores relativos do conteúdo de água e sal difundido a 12,5 e 20,0°C, a 100 MPa	60
Tabela 30 – Valores do conteúdo de NaCl e água a 100 MPa a diferentes tempos de demolha, a 20,0 °C e 12,5 °C	61
Tabela 31 – Comparação dos valores dos coeficientes de difusão para a água obtidos pelo modelo não-linear e linear	63
Tabela 32 – Comparação dos valores dos coeficientes de difusão para o sal obtidos pelo modelo não-linear e linear	64
Tabela 33 – Valores de Fourier para diferentes tempos de demolha a 200 MPa	71

Parte I. Revisão Bibliográfica

Portugal é o terceiro consumidor per capita de peixe do mundo (59,3 kg/ano), sendo apenas superado pelos povos Japonês e Islandês, enquanto a média de consumo de peixe a nível mundial é apenas de 16 kg anuais. Em Portugal, entre as espécies mais consumidas de peixe encontra-se o bacalhau (*Gadus morhua*), que representa mais de 40% do consumo interno de pescado do país, atingindo 50% do valor da indústria de transformação de pescado, o que equivale a 420 milhões de euros (Plano estratégico nacional para a pesca, 2006)¹. Relativamente ao modo de consumo do bacalhau por parte dos Portugueses, desde há muito tempo se verifica a sua preferência pelo bacalhau salgado face ao bacalhau fresco. Assim, o consumo de bacalhau salgado é de grande importância socioeconómica para Portugal e para outros países, com especial realce para Espanha.

Os antigos egípcios foram o primeiro povo a recorrer à salga de produtos alimentares de derivados de carne e peixe com o intuito os conservar, recorrendo ao sal, valendo-se deste método há mais de 4 mil anos. Com a facilidade e sucesso deste processo, a preservação mediante a salga difundiu-se pela Europa com a ajuda do império Romano, sendo actualmente um método muito utilizado, com ênfase para os derivados de peixe. Em 1987 a produção de produtos piscícolas curados era de 13.2 biliões de toneladas².

O subsector da salga de bacalhau nos últimos anos tem tido um crescimento razoável, tendo neste momento em Portugal, 42 unidades activas, maioritariamente localizadas na região centro. Em 2005, produziram-se em Portugal cerca de 77 mil toneladas de bacalhau salgado, representando 37% do volume da produção da indústria de transformação da pesca. Em termos de emprego, equivale a cerca de 1500 empregos¹.

1.1. *Bacalhau salgado*

O consumo de bacalhau sob a forma de bacalhau salgado seco predomina em Portugal sendo o consumo de bacalhau fresco praticamente inexistente. Isto deve-se em muito a tradições seculares, em que a forma mais fácil de transporte e armazenamento deste produto era mediante a salga, já que a refrigeração apenas surgiu no século XX, mantendo-se assim um produto estável microbiologicamente. Actualmente, a preferência por bacalhau salgado face ao bacalhau fresco, resulta do sabor, odor e textura peculiares que são característicos deste produto. Apesar das tradições seculares inerentes, a indústria

Parte I. Revisão Bibliográfica

de processamento de bacalhau foi-se adaptando à crescente importação e exportação da espécie e também às necessidades dos consumidores, surgindo produtos inovadores, especialmente o bacalhau demolido ultracongelado e pratos pré-cozinhados ultracongelados prontos a consumir. Esta adaptação da indústria em prol do consumidor, surge como resposta à menor disposição e disponibilidade do consumidor para planejar antecipadamente a refeição, em parte devido à crescente participação das mulheres no mercado de trabalho. Contudo, todo o desenvolvimento destes novos produtos baseou-se praticamente em conhecimento empírico, dada a escassez ou mesmo inexistência de conhecimento científico publicado. O interesse da indústria em compreender os processos tecnológicos e modelizá-los, especialmente as operações unitárias de salga e demolha cria uma vantagem competitiva, permitindo inovação a nível processual e dos produtos em si.

1.1.1. Características gerais do bacalhau

O bacalhau (*Gadus morhua*) é um peixe que pertence à família *Gadidae* (Figura 1). Porém a palavra bacalhau é empregue para várias espécies de peixes dependendo de país para país. Por exemplo, a comercialização de bacalhau na região do Alasca é associada à espécie *Gadus macrocephalus* e na região de Moçambique e Guiné associa-se à espécie *Rachicetrom canadum*, entre outras, tais como o *Gadus virens*, o *Molva molva* e o *Brosmius brosme*. Porém apenas só a espécie *Gadus morhua* é considerada como o verdadeiro e genuíno bacalhau.



Figura 1 – Fotografia de um bacalhau da espécie de *Gadus morhua* (fonte: fishbase, 2009³)

De acordo com o relatório da *World Wildlife Fund* (WWF) de 2004, actualmente a espécie *Gadus morhua* encontra-se na lista de espécies vulneráveis à extinção. Deste relatório consta também, que a captura de bacalhau nos últimos 30 anos diminuiu 70% dada a escassez da espécie, e se esta tendência continuasse os stocks de bacalhau dentro de 15 anos desapareceriam. Porém, actualmente a produção em aquacultura de bacalhau já é realizada o que permitirá atenuar este problema. No futuro, espera-se que o bacalhau seja

de um ponto de vista económico, a segunda espécie mais importante a seguir ao salmão do atlântico em termos de aquacultura, especulando-se que em 2010 se produzam 175 mil toneladas⁴. Todavia mais esforços são necessários para aumentar os stocks naturais de bacalhau, melhorando assim o estado actual de espécie em perigo de extinção.

A distribuição e captura deste pescado é feita essencialmente nos bancos de áreas do hemisfério norte, dos quais sobressaem pela maior abundância relativa os mares das zonas do Atlântico Norte e do Circo Polar Ártico, a profundidades de 0 a 600 m, mais comum entre 150-200 m, já que o bacalhau prefere águas mais frias com aproximadamente 10 a 15 °C⁵.

Nutricionalmente o bacalhau é um alimento de qualidade de excelência, tendo em conta que o bacalhau esviscerado tem aproximadamente 73% de carne, 21% de osso e 6% de pele. Dos 73% de carne, 20% corresponde à fracção proteica e apenas 0,5% de gordura em termos médios, dependendo do sexo, idade, época de captura e abundância de alimento para a espécie. As proteínas do bacalhau quando comparadas com as proteínas do leite e carne de vaca revelam um valor proteico elevado (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição de aminoácidos do bacalhau, carne de vaca e caseína do leite em função % total, adaptado de Belitz H. D., 2004⁶

Aminoácido	Caseína do Leite	Carne de vaca	Bacalhau
Ácido Aspártico	4,7	4,0	6,8
Treonina*	3,6	3,7	3,4
Serina	5,3	4,6	3,6
Ácido Glutâmico	13,3	9,3	8,8
Prolina	7,5	4,3	3,4
Glicina	3,2	6,0	5,8
Alanina	3,0	4,9	5,9
Cisteína	0,2	0,8	2,5
Valina*	5,4	3,7	2,5
Metionina*	1,8	2,2	2,0
Isoleucina*	4,1	4,2	2,7
Leucina*	6,1	5,1	5,1
Tirosina	3,0	2,1	1,7
Fenilalanina*	2,7	2,7	2,1
Triptofano*	1,0	1,2	1,1
Lisina*	9,8	9,8	11,7
Histidina* ¹	5,3	4,9	3,5
Arginina* ¹	8,2	14,5	13,2

*Aminoácidos essenciais

*¹ Aminoácidos semi-essenciais

Parte I. Revisão Bibliográfica

O músculo de peixe é uma estrutura complexa estruturalmente, sendo composto maioritariamente por proteínas miofibrilhares (70-80%) das quais as principais constituintes, são a actina e a miosina. As proteínas sarcoplasmáticas (20-25%) são constituídas maioritariamente por enzimas e pela mioglobina. Os tecidos de conexão (0,3-3%), também chamados de proteínas do estroma, são constituídos essencialmente pelo colagénio e elastina. Por último, os músculos também contêm polipéptidos, nucleótidos e compostos azotados não proteicos⁷. A Figura 2, ilustra as diferentes zonas do sarcómero. O sarcómero é delimitado pelas linhas Z que são constituídas por α -actinina e tecidos de conexão. O sarcómero é constituído por inúmeros filamentos grossos posicionados paralelamente, formados por moléculas de miosina e filamentos finos constituídos por F-actina, que promovem a contracção e extensão muscular. No sarcómero podem ainda identificar-se as bandas H, I e A e linha M, que delimitam o valor máximo de contracção e extensão que um músculo pode atingir.

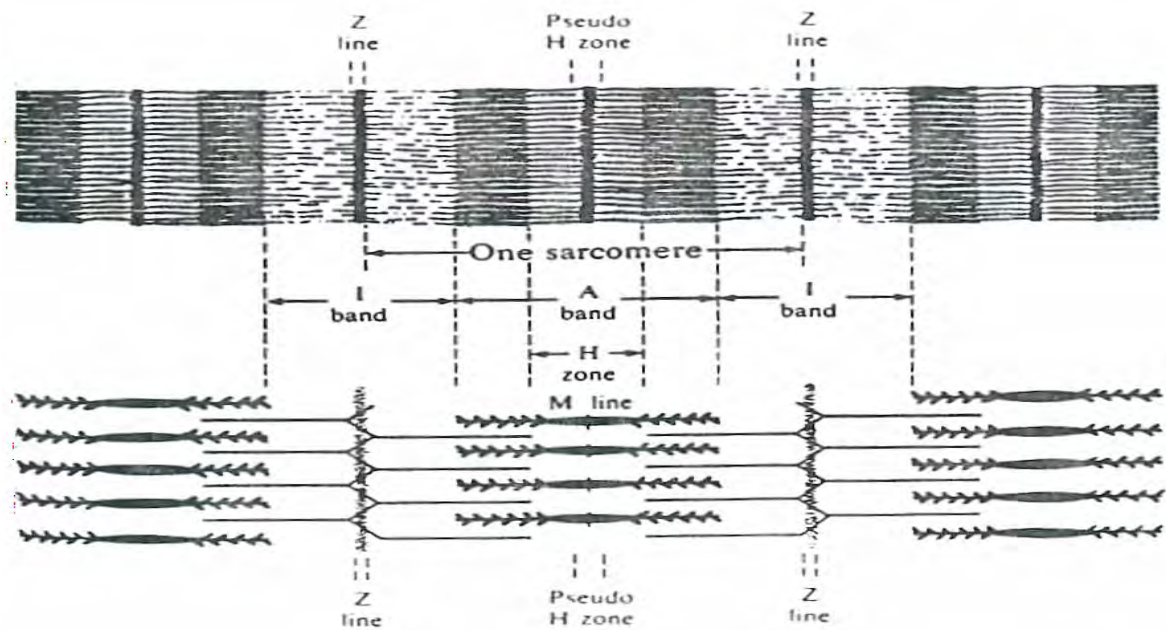


Figura 2 – Esquema representativo das diferentes regiões do sarcómero (reproduzido de Lauritzsen, 2004²)

Relativamente à fracção lipídica, esta é composta essencialmente por fosfolípidos provenientes das membranas celulares, ricos em ácidos gordos polinsaturados (PUFA's), com especial interesse para os ácidos gordos ómega 3, tais como os ácidos eicosapentanóico e o docosahexanóico. Estes ácidos gordos, ajudam na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, inflamações, doenças auto-imunes e cancro

devido à sua acção imunossupressora⁸, sendo assim o consumo deste peixe muito valioso para a saúde. Ao contrário da elevada quantidade de ácidos gordos insaturados, o nível de antioxidantes activos é relativamente baixo no peixe, o que faz com que os lípidos do peixe sejam o maior problema de preservação já que podem sofrer facilmente oxidação⁶.

Actualmente o bacalhau pode ser consumido salgado ou fresco, sendo normalmente depois de pescado, colocado em câmaras de refrigeração, levando a que algumas das suas características sensoriais possam ser alteradas. *Ludorff* (1973)⁶, sugeriu um teste (Figura 3), que avalia a qualidade do bacalhau fresco ao longo do tempo de armazenamento em gelo. Este teste, considera três escalões de qualidade com base nos diferentes parâmetros em análise, isto é, o bacalhau de muito boa qualidade, o de boa qualidade e o de baixa qualidade, que não é apropriado para ser exportado devendo ser consumido o mais rápido possível, já que se encontra no limiar de aceitação do consumidor, que corresponde a mais ou menos 16 dias de armazenamento. O teste sugerido foi inicialmente desenvolvido para bacalhau, mas pode ser utilizado para qualquer tipo de peixe, já que se baseia em modificações sensoriais e bioquímicas comuns a qualquer espécie.

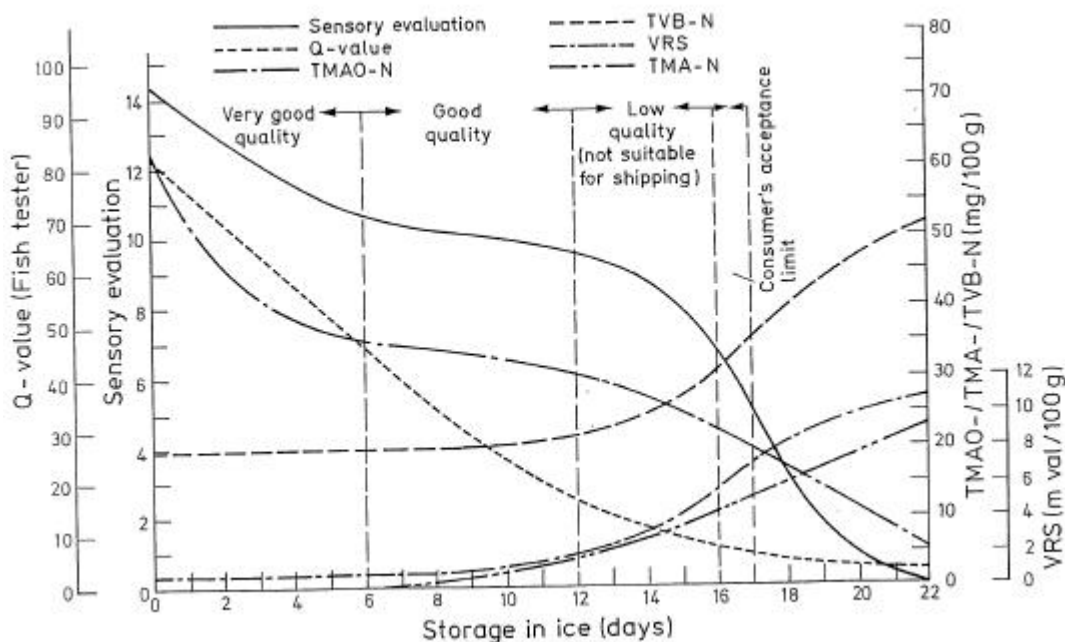


Figura 3 – Alterações da qualidade do bacalhau durante o armazenamento em gelo (reproduzido de Belitz H. D., 2004⁶)

Parte I. Revisão Bibliográfica

Os parâmetros de qualidade em questão neste teste incluem uma avaliação sensorial em que 1/3 equivale à aparência visual e 2/3 ao odor, sabor e textura. A resistência eléctrica do músculo do peixe, expressa pelo valor do parâmetro Q, o chamado *Fish Test*, é um indicador qualitativo de bom armazenamento e contaminação de peixe, já que quando há contaminação a resistência eléctrica da carne é muito menor, porque as células não ficam intactas sofrendo maioritariamente lise celular. O peixe em média contém 40 a 120 mg/kg óxido de trimetilamina (TMAO-N), composto que regula a pressão osmótica. Porém, depois de morto, este composto é reduzido por bactérias originando a trimetilamina (TMA-N) com o odor forte a peixe estragado, sendo assim estes dois compostos indicadores de qualidade. Além disso, durante o armazenamento a TMA-N também é clivada enzimaticamente, levando à produção de dimetilamina e formaldeído. Além destes compostos serem indicadores de qualidade, já que levam à modificação de odor e sabor, o formaldeído pode reagir com proteínas reduzindo a sua solubilidade e promovendo assim uma carne mais dura⁶.

Como resultado da fácil deterioração do bacalhau fresco, este alimento necessita de ser conservado, o que actualmente inclui vários métodos que são descritos em baixo, sendo de realçar, como já foi dito para Portugal, o da salga.

1.1.2. Salga do bacalhau

O pescado é conservado actualmente de várias formas. No caso do bacalhau este é vendido sob a forma de congelado inteiro ou em postas, refrigerado inteiro ou em postas. Em Portugal, é conservado maioritariamente sob a forma de bacalhau salgado. Resumidamente, na Figura 4 são apresentados os diferentes tipos de processamento de peixe. Actualmente estes já são feitos a bordo dos barcos de pesca, já estes possuem condições tanto tecnológicas como higiénicas para poder realizar tais processos. Assim, de modo geral, os peixes são primeiro sangrados, esviscerados, lavados, cortadas as cabeças e finalmente filetados. No caso de bacalhau salgado, a salga é realizada com o peixe inteiro. Actualmente, começa a ser cada vez mais comum que o bacalhau seja congelado a bordo e posteriormente descongelado em terra, onde se procede à salga.

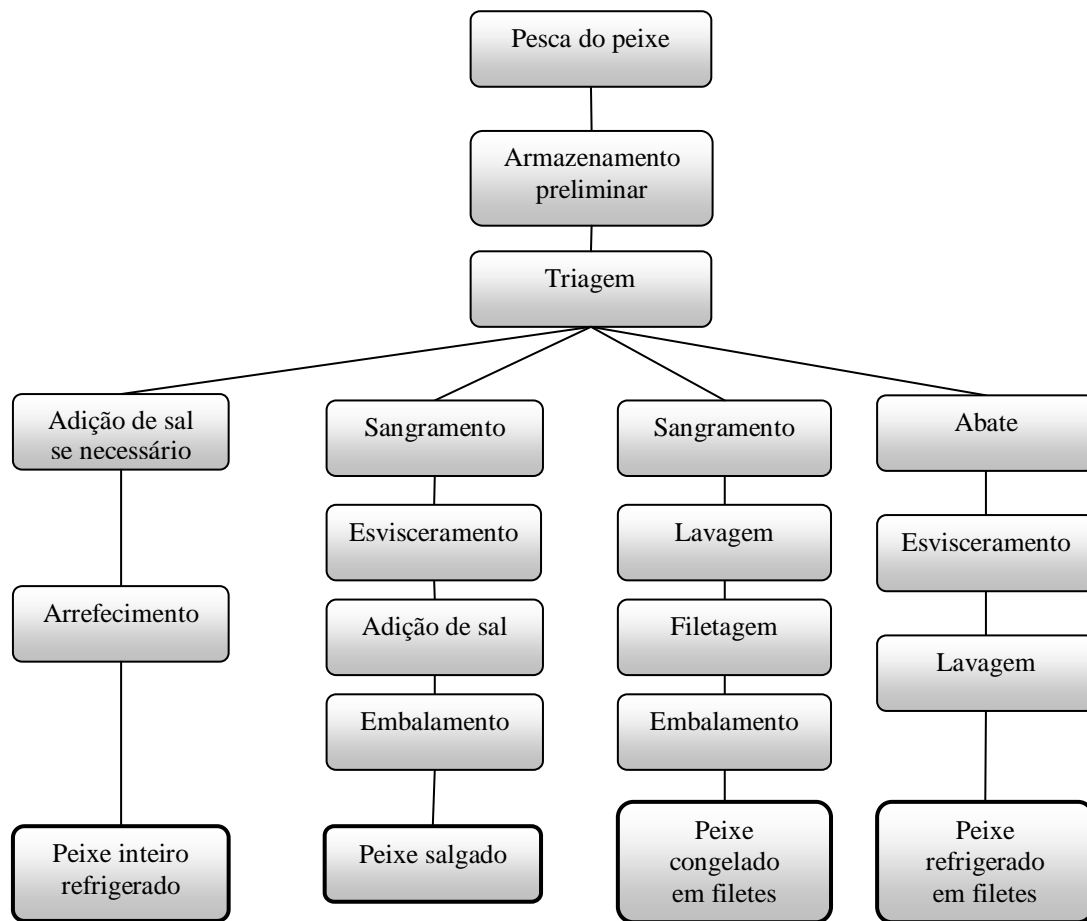


Figura 4 – Diferentes processos de conservação de peixe, adaptado de Belitz H. D., 2004⁶

O processo da salga do bacalhau baseia-se na desidratação osmótica do peixe fresco, em que o bacalhau é colocado em NaCl sólido, ou então numa solução aquosa salina concentrada (18 a 25% NaCl, m/m). Ao fim de aproximadamente de 2 a 8 semanas⁹, o bacalhau fica com um conteúdo em sal de 15 a 25% (m/m) e com uma quantidade de água que se reduz de aproximadamente 82% até 50% (m/m), resultando numa diminuição da actividade da água para 0.70 a 0.75 unidades e numa diminuição do pH do músculo de aproximadamente 7 para 6.5 unidades¹⁰. Desta forma, obtém-se um alimento estável microbiológica e bioquimicamente¹¹ durante vários meses ou mesmo anos, desde que seja conservado nas condições correctas¹². A salga leva a que haja plasmólise das células e desnaturação das proteínas musculares, diminuindo a solubilidade destas. A saída de água do bacalhau que ocorre durante a salga, surge quando é perdida a estabilidade dos músculos que era conferida por grupos hidrofílicos das proteínas, expondo áreas hidrofóbicas, levando a que as proteínas se agreguem e precipitem.

Parte I. Revisão Bibliográfica

Existem três modos mais usuais de salga de peixe, sendo que o mais comum em Portugal (e para bacalhau) é a utilização de NaCl sólido directamente na carne, depois de o peixe ter sido esventrado e lavado, de modo que enquanto o sal difunde para o peixe, a água difunde para o meio exterior, sendo drenada. O segundo método, é muito idêntico a este mas a água que é extraída não é drenada, sendo este método usado para peixes mais gordos. No terceiro método, em vez de o sal ser adicionado em cristais, é usada uma solução aquosa concentrada⁹. Este último método tem a vantagem de prevenir o aroma e gordura a ranço, isto é, a oxidação lipídica, porque evita o contacto com o oxigénio. Além disso também é mais rentável para o produtor porque se difunde menos água para o exterior¹³.

Na desidratação osmótica do bacalhau, ocorre um processo de difusão simultâneo de água e de solutos, em que se verifica a difusão de água e solutos presentes no bacalhau (minerais, vitaminas, etc.) para a solução de salmoura/sal e a difusão do sal para o peixe. A velocidade a que se verificam estas difusões e consequente duração do processo de salga depende de factores, internos e externos ao peixe:

Factores internos:

- Tamanho do músculo, o tipo de fibra (escura ou clara), o alinhamento das fibras e o estado de *rigor mortis* em que se encontra o produto¹⁴;
- Condições em que se encontra o bacalhau antes da salga (refrigerado ou congelado)¹⁵;
- Rácio entre as fibras musculares e tecidos de conexão¹⁶;
- pH do peixe¹⁷;
- Conteúdo lipídico e temperatura do peixe¹⁴;
- Permeabilidade da membrana celular do produto alimentar;

Factores externos:

- Temperatura da solução de salmoura¹⁸;
- Concentração de NaCl¹⁸;
- Rácio entre solução salina e bacalhau;
- Método da salga¹⁹, isto é, NaCl sólido ou líquido;
- Actividade microbiana²⁰;

A actividade microbiana é um factor que afecta o processo de salga do bacalhau. A actividade proteolítica resultante da presença de microrganismos leva à degradação das células musculares, facilitando assim, os processos de difusão de água e sal²⁰.

O tipo e qualidade do sal que se usa na salga afecta as qualidades finais sensoriais do bacalhau. Os iões sódio levam a que o peixe fique mais macio e amarelado. Os iões de cálcio e magnésio são impurezas comuns (0,5 a 1,5%) no sal mais usado para este processo, o sal marinho. Estas impurezas levam ao branqueamento da superfície e enrijecimento da carne. Caso estejam em concentrações muito elevadas, a carne torna-se excessivamente dura e compacta¹³. A causa do branqueamento não é clara, sendo a hipótese mais aceite na literatura a de que haja precipitação de proteínas ou interacção entre estes catiões bivalentes e as proteínas¹¹. Estes iões também inibem processos enzimáticos que contribuem para o desenvolvimento microbiano. Os iões cobre e ferro levam ao aparecimento de manchas castanhas ou amarelas na superfície do bacalhau²¹. Todos estes minerais já foram reportados na literatura como aceleradores da oxidação lipídica, assim como da desnaturação proteica²¹.

O tamanho dos grãos de sal é outro factor que influencia as propriedades organolépticas finais do bacalhau. Isto porque um sal muito refinado leva a que este se dissolva rapidamente nos fluidos presentes no músculo e espaços intermusculares, causando uma rápida saída de água da superfície dos tecidos, e que consequentemente leva a uma desnaturação e coagulação proteica muito rápida, evitando que entre mais sal.

O cloreto de potássio já foi apontado como um substituto para o sal marinho, já que evita os problemas associados à hipertensão sanguínea, porém este sal provoca sabores amargos, pode diminuir a intensidade do sabor em concentrações elevadas¹³ e a sua disponibilidade é menor relativamente ao cloreto de sódio.

1.1.3. Aspectos bioquímicos da salga do bacalhau

As alterações bioquímicas que decorrem durante o processo de salga do bacalhau, explicam as diferenças a nível sensorial e organoléptico que se verificam entre o bacalhau fresco/congelado e salgado.

O *rigor mortis* é a alteração mais proeminente que ocorre no músculo do peixe após a sua morte. Este processo inicia-se quando a concentração da molécula de creatina fosfato (molécula de reserva, que cede o grupo fosfato ao ADP) é igual à concentração de ATP existente no músculo. O *rigor mortis* leva a que a actina e a miosina se liguem permanentemente daí o músculo estar sempre contraído¹³. Passado algum tempo, surgem alterações características do *post-mortem*, fazendo com que a carne fique mais tenra devido

Parte I. Revisão Bibliográfica

ao enfraquecimento dos discos Z das miofibrilas. Verifica-se também que há degradação dos tecidos de conexão e/ou ao enfraquecimento das ligações miosina – actina²².

Dependendo se o início da salga do bacalhau é feito antes ou depois do *rigor mortis*, a qualidade do produto final é diferente. Quando o sal é adicionado *pre-rigor*, este inibe as enzimas da glicólise envolvidas no *post-mortem*. Consequentemente, o pH é 0.3-0.4 unidades mais elevado do que seria caso a adição de sal fosse feita *post-rigor*. A distribuição do sal também não é uniforme e a sua difusão é menor comparando com a adição de sal *post-rigor*²³. Além disso, verifica-se uma grande perda de água, o que no final resulta num bacalhau com um peso menor²². Sensorialmente, o sal que foi adicionado é menos detectável ao palato e a carne fica mais dura.

Importa referir que o pH final do peixe resulta da hidrólise do ATP e da metabolização de glicogénio a lactato. Quando o pH final é menor que 6.6 unidades, o músculo do bacalhau fresco fica mais macio e mais fácil de lascar^{22, 24}. A lascagem ocorre quando os miotomas (segmentos musculares longitudinais do peixe) se separam. Esta separação é causada pelo pH baixo, *rigor mortis*, temperaturas altas durante o armazenamento e desintegração das fibras de colagénio dos tecidos envolventes aos miotomas²⁵ (estes últimos desintegram-se porque muitas proteínas dos tecidos envolventes são solúveis em sal²⁶).

Sensorialmente, uma salga realizada *pre-rigor* leva a que a carne do bacalhau fique depois de demolhada mais dura e menos lascável, sendo assim preferível que se realize a salga do bacalhau após o *rigor mortis*²⁰.

Quando se coloca o bacalhau numa solução de salmoura de concentração baixa, de 2 a 5% ou no início da salga com NaCl no estado sólido, ou seja, quando a concentração de NaCl nos músculos é baixa, as miofibrilas dilatam e a água liga-se fortemente a estas. O aumento da capacidade de retenção da água está associado à solubilização de proteínas e ao enfraquecimento das interacções entre as cadeias miofibrilares laterais de carga oposta²⁷. Este enfraquecimento das interacções entre cadeias laterais é causado pela entrada de iões Na⁺ e Cl⁻, fazendo com que se forme uma rede que retém as moléculas de água^{28, 29}, aumentando assim a capacidade de retenção de água dos músculos.

Ao aumentar a concentração de sal nos músculos, a miosina desnatura rapidamente, levando a que haja perdas de água e captação de NaCl. A desnaturação pode ser evitada, caso se mantenha a solução de salmoura com concentração de sal menor que 15%³⁰.

Também a salga é afectada caso se tenha congelado o bacalhau ou se tenha mantido refrigerado em gelo antes da adição de sal. Quando o bacalhau é congelado antes da salga, demonstra uma absorção mais rápida de sal comparando com o bacalhau que foi apenas refrigerado em gelo. A razão para tal, é que a congelação desnatura alguns tecidos musculares, fazendo com que fiquem mais permeáveis, que consequentemente também retêm menos água²⁶. Além disso, a desnaturação das proteínas durante a congelação, permite que os microrganismos possam utilizar mais facilmente os aminoácidos do músculo, produzindo aldeídos, cetonas, aminas, etc., criando aromas indesejados no produto final²².

O efeito da salga na actividade das enzimas endógenas do bacalhau depende essencialmente da concentração do sal envolvente. A actividade das enzimas, quimotripsina, tripsina, collagenase e elastase nos primeiros 5 dias de salga aumentam. Porém, quando a concentração atinge mais ou menos 10% de sal no músculo, a actividade destas diminui. As proteases acídicas na presença de baixas concentrações de NaCl não apresentam actividade. As enzimas que hidrolisam a hemoglobina perdem actividade com o aumento da concentração de NaCl.

A actividade das enzimas proteolíticas desempenha um papel importante na alteração da textura, do aroma e do sabor do produto final^{31, 32}. As enzimas endógenas do bacalhau afectam essencialmente a textura, nomeadamente as collagenases que atacam as hélices triplas do colagénio, levando a alterações texturais não desejáveis, especialmente fendas musculares e perda da consistência do músculo³². As calpaínas são proteases que são activas contra vários tipos de proteínas miofibrilares, clivando-as em sítios específicos, originando fragmentos que são susceptíveis à clivagem de outras proteases, podendo originar odores e sabores não desejáveis.

O bacalhau quando salgado atinge um valor de actividade da água, de 0.70 a 0.75. Nesta gama de actividade da água, como se verifica na Figura 5, a velocidade relativa das reacções de auto-oxidação lipídica são máximas, enquanto que a actividade enzimática é moderada. Nesta gama de actividade da água, a velocidade relativa das reacções de acastanhamento não enzimático também são máximas, porém como o bacalhau contém uma quantidade mínima de açúcares, esta reacção não tem importância.

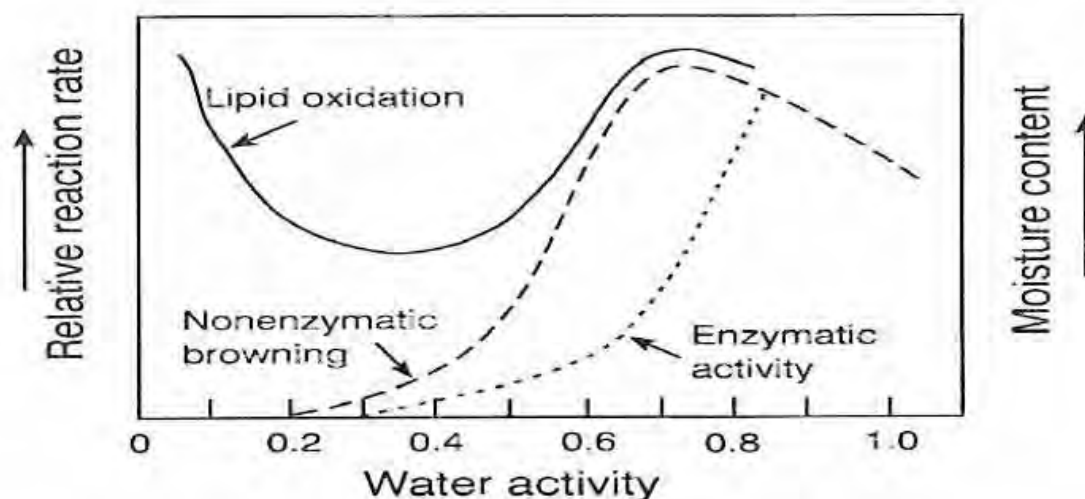


Figura 5 – Velocidade relativa das reacções de oxidação lipídicas, acastanhamento não enzimático e actividade enzimática em função da actividade da água (reproduzido de Lauritzsen, K., 2004²)

Assim, as principais alterações que comprometem a estabilidade do bacalhau durante a salga são mediadas por mecanismos não enzimáticos², principalmente a auto-oxidação lipídica e mecanismos enzimáticos especialmente se a a_w aumentar ligeiramente.

1.1.4. Demolha de bacalhau

Para que o bacalhau salgado possa ser consumido é necessário realizar uma demorada operação de demolha, que se realiza tradicionalmente a nível doméstico, sendo o bacalhau colocado empiricamente durante 24 a 48h em água, com várias mudanças, refrigerado ou à temperatura ambiente^{9, 33}. Este passo, necessário antes do consumo de bacalhau, leva a que sua preparação seja obrigatoriamente antecipada. Deste modo, o consumo de bacalhau não pode ser feito de forma impulsiva, constituindo isto assim uma dificuldade ao consumo do mesmo, especialmente na sociedade actual em que os consumidores tendem a consumir produtos de conveniência e pratos pronto a comer³⁴. Porém, nos últimos anos a indústria tem ido ao encontro das necessidades do consumidor, produzindo bacalhau demolhado ultracongelado. No entanto ainda é necessário conhecer mais detalhadamente o processo de demolha para que se possa otimizar a nível processual, económico e de qualidade do produto final, já que o trabalho que a indústria tem vindo a desenvolver tem-se baseado quase unicamente em conhecimento empírico.

Em termos físico-químicos, a demolha envolve duas mudanças principais que ocorrem simultaneamente³⁵, isto é, a matriz proteica é rehidratada resultando na melhoria

das qualidades sensoriais do bacalhau, além disso o conteúdo de NaCl baixa, podendo ser visto como uma extracção sólido-líquido em que os solutos são os iões sódio e cloro e o solvente é a água. A transferência de gordura e proteínas para a água de demolha em termos cinéticos pode ser desprezada³⁴. Como foi referido anteriormente na salga, a demolha também é influenciada por vários factores tanto internos como externos³⁶. Em termos cinéticos a difusão de sal e de água seguem a 2ª lei de difusão de Fick em estado estacionário, que se baseia noutro modelo, o modelo de Crank³⁷.

Dependendo da disponibilidade de grupos polares (ex. composição dos aminoácidos) e espécies iónicas, do pH, da área superficial e topografia geral da superfície do bacalhau, da temperatura da água de demolha, a água ir-se-à ligar às proteínas musculares de modo diferente³⁸. A água pode ser encontrada nos músculos em duas formas, a água *ligada* ou água *livre*, estando presente maioritariamente nas miofibrilas, entre os filamentos de miosina e os filamentos de actina/tropomiosina. Estima-se que 5% da água total do músculo esteja ligada directamente aos grupos hidrofílicos das proteínas.

De um ponto de vista industrial, o problema principal da demolha é o tempo demasiado longo para que esta se complete, isto é, o bacalhau ficar com o conteúdo de NaCl e água requeridos, já que como já foi referido este, é um processo lento. Assim, interessa à indústria recorrer a processos inovadores que possam diminuir o tempo para que se complete a difusão da água e do NaCl. Deste modo, a indústria tem tentado acelerar o processo de demolha, usando circulação de água e optimização do número de mudanças de água. Na literatura científica, aparece a possibilidade do uso de vácuo para acelerar o processo de demolha, embora com resultados pouco significativos (este aspecto é tratado mais detalhadamente à frente).

1.1.5. Aspectos microbiológicos e bioquímicos da demolha de bacalhau

O facto da miosina ter sido desnaturada durante a salga, tem pouco impacto para a qualidade do produto final após a demolha. Depois da rehidratação dos tecidos, concluiu-se que a estabilidade conformacional das proteínas foi perdida quando comparada com o seu estado no bacalhau fresco, verificando-se que, a molécula de miosina é mais afectada que a molécula de actina²⁷. Após a demolha há uma ligeira diminuição do conteúdo proteico total³⁰. Esta perda deve-se à solubilização na água de demolha de proteínas solúveis na água de demolha²⁷.

Parte I. Revisão Bibliográfica

Microbiologicamente, a *Psychrobacter sp.*, representa mais de 99% do total das bactérias encontradas no bacalhau demolido refrigerado. Esta bactéria liberta um odor característico a fungos, isto é, a bolor. A grande vantagem competitiva desta bactéria, em comparação com as outras, é que esta resiste à salga. Quando é feita a demolha esta recomeça a sua actividade²⁰. A principal diferença em termos microbiológicos entre o bacalhau fresco e o bacalhau demolido é que o último tem uma maior diversidade e quantidade da microflora. Esta diferença explica-se porque o bacalhau demolido tem menos muco da pele, estando assim menos protegido e também porque durante a demolha, dado o longo tempo que esta demora, ocorre crescimento bacteriano.

1.2. *Tecnologia de Alta Pressão*

1.2.1. **State of the art – Efeito da alta pressão em alimentos**

A tecnologia de alta pressão surgiu a partir de ciências de materiais de variados ramos, tais como a cerâmica, diamantes, supercondutores, etc.. Porém rapidamente começou a ser aplicado no ramo das ciências da vida, especialmente em biotecnologia e bioquímica alimentar, já que é uma tecnologia que permite destruir microrganismos sem recorrer ao uso de temperatura³⁹ e alterar a actividade de enzimas.

Actualmente, a tendência do mercado do ramo alimentar vai de encontro a produtos pouco ou nada processados, de modo a que sejam o mais frescos e naturais possíveis, isto porque o consumidor é cada vez é mais exigente, desejando produtos frescos e saudáveis. Assim, têm surgido novas tecnologias para pasteurizar alimentos com o mínimo de processamento possível, que tentaram evitar o recurso ao aquecimento como meio de pasteurização. Desses processamentos, pulsos eléctricos, ultra-sons, irradiação (pouco aceite pelo consumidor), aquecimento óhmico (esta é uma tecnologia de aquecimento ultra-rápido) e alta pressão hidrostática. Destas, sobressai a alta pressão já que processa os alimentos a frio⁴⁰, não ficando estes *cozidos*, preservando a cor, aroma e os compostos nutritivos (normalmente termosensíveis). A tecnologia é facilmente utilizável em condições industriais, havendo hoje um leque variado de alimentos processados por alta pressão no mercado, desde presunto inteiro e fiambre (Espanha), ostras, guacamole, alimentos pré-cozinhados (U.S.A), sumos de fruta (Portugal), etc..

O sucesso desta tecnologia está muito relacionado com o facto de a pressão quando aplicada é uniforme e instantaneamente transmitida aos produtos independentemente da

sua forma e geometria. Isto facilita muito os estudos a nível laboratorial, uma vez que se podem utilizar pequenas amostras e o efeito da pressão nestas é o mesmo que numa amostra maior. O facto do efeito da pressão ser instantâneo cria uma enorme vantagem para processamento de produtos alimentares. Isto, porque o efeito na superfície é igual ao efeito no interior do produto, o chamado de Princípio de Pascal. No caso do tratamento térmico, para atingir determinada temperatura no interior do produto, dependendo do tamanho e estrutura deste, é necessário uma temperatura à superfície muito maior, levando a maior deterioração do produto, originando *off-flavours*, e outras características sensoriais pouco apelativas à superfície do produto.

O efeito termodinâmico da alta pressão sobre um sistema segue o princípio de *Le Chatelier*, em que qualquer fenómeno que implique uma redução do volume do sistema (solvente, reagentes e produtos) é favorecido por aumentos de pressão (e vice-versa), favorecendo o fenómeno em questão, que poderá ser uma reacção química ou bioquímica. Então, sob pressão, o equilíbrio termodinâmico de uma reacção é determinado pela variação do volume total do sistema ao passo que, a cinética da reacção é determinada pelo volume de activação, V_a , que exprime a diferença de volume entre o estado de transição e os reagentes³⁹.

Em termos fundamentais, o efeito da alta pressão nos sistemas biológicos afecta apenas alguns componentes, o que pode ser explicado pela seguinte analogia. Quando 1 L de água é comprimido a 400 MPa, a energia de compressão utilizada é de 19,2 kJ. Este valor é equivalente à energia que é necessária para aquecer a mesma quantidade de água de 20 a 25°C. Com estes valores, pode-se concluir que, os baixos níveis de energia envolvidos nos processamentos de pressão podem explicar que apenas as interacções fracas são afectadas e as ligações mais fortes são muito pouco afectadas³⁹. No caso das matrizes alimentares, apenas as estruturas complexas (tridimensionais) podem sofrer alterações, isto porque, estas estruturas são controladas por ligações fracas de pontes de H, ligações iónicas e interacções Van der Waals, ao passo que as ligações mais fortes, tais como as covalentes são menos afectadas (até 1 GPa)⁴¹. Assim é possível que sob pressão haja desnaturação de proteínas, coagulação, etc., dependendo da severidade do tratamento e do material em estudo. Estes efeitos indesejáveis na maior parte dos casos, podem ser reversíveis ou irreversíveis. A nível proteico, pressões acima de 200 MPa podem afectar

Parte I. Revisão Bibliográfica

estruturas quaternárias, ao passo que pressões acima de 700 MPa afectam estruturas terciárias dependendo da natureza das proteínas³⁹.

1.2.2. Equipamento de Alta-pressão

Tecnologicamente, os equipamentos de alta pressão são sistemas de uma componente mecânica muito forte o que é uma vantagem industrial já que não são necessários técnicos altamente qualificados para o seu manuseamento (na Figura 6 encontra-se o aparelho de alta pressão da Universidade de Aveiro utilizado neste trabalho experimental).

O modo de compressão pode ser feito de duas maneiras. O método menos usado, o de compressão directa ou então o de compressão indirecta. No caso do sistema de compressão directa, o vaso é preenchido com o meio pressurizante, sendo depois comprimido por pistão de grande diâmetro e movido por bomba de baixa pressão, este método está a cair em desuso devido à elevada força de atrito que se exerce nas paredes do vaso que evita que haja perdas de pressão, diminuindo drasticamente o tempo de vida dos aparelhos. O sistema de compressão indirecta contém um intensificador de alta pressão que é utilizado para bombear o meio de pressurização do reservatório para o vaso até que se alcance o nível de pressão desejado.



Figura 6 – Aparelho de Alta pressão da Universidade de Aveiro, utilizado no trabalho experimental

O sistema de pressurização contém um vaso de pressão, gerador de pressão, fluido de pressurização, dispositivo de controlo de temperatura e recipiente para o acondicionamento do produto. O vaso de pressão, é habitualmente um cilindro, construído em aço inoxidável de alta resistência à pressão, contendo o fluido de pressurização que é constituído por água ou óleos minerais ou vegetais ou mesmo misturas, normalmente propilenoglicol – água. Esta composição tem como intuito aumentar a lubrificação, ter efeito anticorrosivo e anticongelante. Porém, industrialmente, dado que os processamentos são feitos à temperatura ambiente, a água é o meio mais utilizado, já que é mais barato e evita possíveis contaminações do produto. A câmara de pressurização é o mais selada possível de modo a evitar o máximo perdas de pressão tentando estabilizá-la ao máximo ao longo do tempo. A temperatura também é um factor controlável nestes aparelhos, podendo ser um controle externo ou interno, isto é, usando um permutador de calor interno (com camisas de arrefecimento ou aquecimento) no vaso de pressurização ou por recirculação do meio de aquecimento/ refrigeração externamente. Uma das grandes vantagens económicas do uso da alta pressão é que a partir do momento que se atinge a pressão desejada não é necessário gastar mais energia para manter a pressão constante.

A alta pressão hidrostática é assim uma tecnologia que tem um grande potencial para processamento de alimentos. Nos últimos anos têm também surgido vários estudos que indicam grande potencial de utilização desta tecnologia em várias áreas, nomeadamente biotecnologia e farmacêutica.

1.2.3. Efeito da alta pressão em bacalhau

No caso do bacalhau interessa avaliar qual efeito da alta pressão na oxidação lipídica, já que é um dos factores que mais limitam a conservação deste pescado. Interessa também avaliar o efeito da alta pressão nas células musculares animais, assim como nos seus constituintes principais. Um estudo do efeito da pressão sobre as enzimas endógenas do bacalhau também é de interesse já que estas comprometem em muito a qualidade final do produto. E por último, o efeito da alta pressão hidrostática sobre a textura do bacalhau é algo também muito relevante já que pode afectar uma das características mais apreciadas pelos consumidores.

Parte I. Revisão Bibliográfica

Efeito da alta pressão na oxidação lipídica

Quando aplicadas altas pressões, em carne ou em peixe, verifica-se que uma das maiores desvantagens é que especialmente na presença de oxigénio, leva a que a taxa de oxidação lipídica aumente. Foi demonstrado que, a oxidação lipídica causada pela alta pressão é resultado da libertação de iões metálicos de complexos proteicos, especialmente dos grupos heme da hemoglobina^{42, 43}. Para o caso do peixe, este é mais susceptível à oxidação lipídica comparando com a carne animal, já que o peixe tem uma concentração maior de gorduras polinsaturadas, logo mais reactivas com oxigénio. Apesar do efeito da alta pressão potenciar a oxidação lipídica, apenas pressões acima de 400 MPa comprometem a estabilidade dos lípidos no bacalhau⁴⁰. Esta situação pode dever-se à pequena quantidade de lípidos existente no bacalhau.

Efeito da alta pressão na estrutura do sarcómero

Dada a inexistência de referências na literatura relativas ao efeito da alta pressão no sarcómero de bacalhau, descrevem-se de seguida resultados obtidos de trabalhos que estudaram o efeito da alta pressão em sarcómeros de carne de peru.

Como se verifica na Figura 7a, as amostras não processadas, têm os sarcómeros intactos, sendo estes delimitados entre duas linhas Z. Estas subunidades repetem-se ao longo do comprimento da miofibrila. Na Figura 2 também se identificam claramente as estruturas definidas das linhas M e as bandas H, A e I. A salga da carne de peru à pressão atmosférica (Figura 7b) resulta no aumento do volume das miofibrilas. Além disso, verifica-se que há um ligeiro desvanecimento das linhas M e Z, e a banda H desaparece. Quando se aplica uma pressão de 150 MPa durante 15 minutos (Figura 7c), verifica-se que as miofibrilas aumentam de volume, e a linha M desaparece completamente. Ao mesmo tempo, as densidades das bandas A e I são reduzidas. Verifica-se também que a linha Z sofre algumas alterações surgindo pequenos segmentos na mesma. Esta modificação é explicada pela desnaturação da actina que é o principal componente que se liga à linha Z⁴⁴. O tamanho do sarcómero sob pressão quando comparado com o controlo, diminui. Isto foi atribuído a uma contracção induzida pela pressão. Porém a estrutura das miofibrilas não é alterada o que faz com que consiga reter maiores quantidades de água²⁸. Finalmente, a salga a 300 MPa durante 15 minutos, resultou em grandes alterações na estrutura das miofibrilas (Figura 7d).

As alterações a nível estrutural nos sarcómeros de Perú durante a salga sob alta pressão, são altamente dependentes da pressão aplicada. Estas alterações levam a que se reduza a capacidade de retenção da água a pressões acima de 150 MPa.

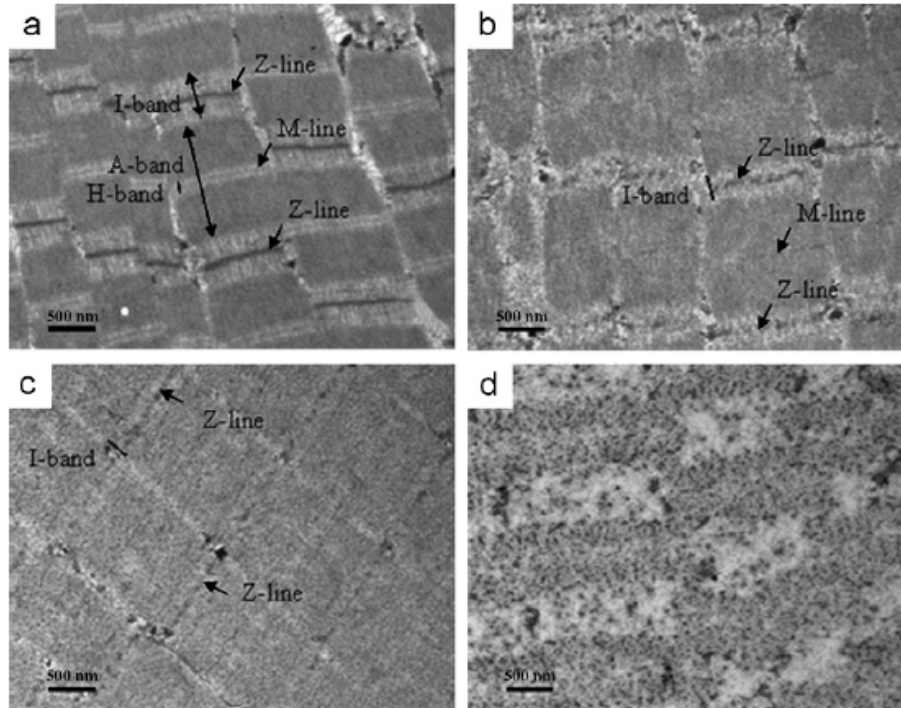


Figura 7 – Microscopia electrónica de transmissão de amostras de peito de Perú; a – amostra não processada; b- salga durante 2 h à pressão atmosférica; c- salga durante 15 min a 150 MPa; d- salga durante 15 min a 300 MPa. Utilizando uma solução salina de 50 g/L de NaCl (reproduzido de Balasubramaniam *et al.* (2007)²⁸)

Efeito da alta pressão na miosina e actina

Mediante a análise por electroforese e calorimetria diferencial de varrimento (DSC), verificou-se que tratamentos de pressão alteram a actividade de enzimas e estrutura de várias proteínas do bacalhau⁴⁰. Das proteínas estruturais do músculo do bacalhau as mais relevantes são a miosina, e actina, que sob pressão são desnaturadas³⁹. A miosina é desnaturada nas gamas de pressão de 100 a 200 MPa formando complexos com propriedades de um gel, estabilizados por pontes de hidrogénio e pontes dissulfureto⁴⁵. A actina e outras proteínas sarcoplasmáticas são desnaturadas a partir de 300 MPa³⁹. As proteínas sarcoplasmáticas são as mais resistentes à desnaturação sob alta pressão.

Efeito da alta pressão em proteases

Dependendo do substrato ou do tipo de tratamento de pressão aplicado⁴⁶, as proteases endógenas do bacalhau podem ficar mais ou menos activas no músculo. Apesar

Parte I. Revisão Bibliográfica

de algumas proteases ainda revelarem actividade a 800 MPa, estas a partir de 200 MPa têm uma actividade mínima, ao seu pH óptimo de 6,6.

Efeito da alta pressão na textura do peixe

Tal como acontece com a temperatura, o efeito da alta pressão na coesividade e na elasticidade é pequeno, tendo-se verificado uma pequena diminuição da coesividade e um pequeno aumento da elasticidade até 300MPa. Ocorre também uma ligeira diminuição da adesividade e da gomosidade das filetes de bacalhau quando tratados até 200 MPa. Porém, estes parâmetros aumentam significativamente apenas acima de 400 MPa. A mastigabilidade e a dureza aumentam também significativamente entre 400 e 600 MPa, em relação ao bacalhau fresco e a amostras tratadas a 200MPa^{40, 45}. Estes efeitos estão resumidos na tabela seguinte.

Tabela 2 – Efeito de alta pressão na textura e estabilidade de proteínas e lípidos de bacalhau fresco adaptado de Angupanich e Ledward (1998)⁴⁰

Pressão (MPa)	Estabilidade dos lípidos	Estabilidade das proteínas	Textura	Actividade de proteases
0,1-200	-----	Desnaturação da miosina e formação de um gel	Diminuição da adesividade, a gomosidade e a coesividade	Ligeiro aumento da actividade de proteases acídicas
200-400	-----	Desnaturação da actina e algumas proteínas sarcoplasmáticas	Incremento da dureza, adesividade, mastigabilidade e gomosidade	Diminuição acentuada da actividade de proteases acídicas, neutras e alcalinas
400-800	Muito afectada	Poucas mudanças relativamente à anterior	Ligeiras alterações	Diminuição adicional das actividades, especialmente as proteases alcalinas

Como se verifica na Tabela 2, o efeito da alta pressão em bacalhau fresco leva a que as suas propriedades texturais sofram algumas alterações, especialmente para pressões mais elevadas (>200 MPa). De modo global, a alta pressão apenas causa alterações em bacalhau fresco para pressões relativamente elevadas (> 200-300 MPa). Em bacalhau salgado, é de esperar ainda menos efeito por dois motivos. Primeiro porque a quantidade de água e a actividade da água são menores, o que normalmente aumenta a estabilidade dos alimentos à alta pressão. Segundo, porque durante a salga ocorre algumas alterações, como perda de actividade enzimática e desnaturação de proteínas, que já não devem ocorrer tão significativamente sob alta pressão.

1.2.4. Redução do tempo da demolha de bacalhau

Actualmente, têm-se desenvolvido novas metodologias, baseadas em alta pressão para aumentar o rendimento de processos de extracção, como por exemplo extracção de café de chá verde⁴⁷ e também processos de difusão²⁸. A ideia deste trabalho experimental surgiu a partir destes trabalhos científicos e de princípio fundamental da alta pressão, o de que esta aumenta o chamado processo de “electrostriction”, ou seja a compactação da água à volta de grupos iónicos e polares.

Tendo em conta que a difusão é o principal mecanismo de transferência de massa responsável pelo processo de demolha, e este mecanismo é bastante lento, existe interesse em desenvolver novas tecnologias para diminuir o tempo em que decorre este processo.

Actualmente estão descritas na literatura duas tecnologias que podem acelerar os processos de transferência de massa para alimentos, o vácuo e a alta pressão hidrostática. A tecnologia de aplicação de vácuo já é reportada na literatura para impregnação de vários tipos de solutos⁴⁸⁻⁵⁰ e para acelerar a salga e a demolha de bacalhau, levando a tempos mais curtos de demolha⁹. Porém esta redução de tempo, também já descrita, foi escassa dada a dificuldade de obter elevados níveis de vácuo. Outro obstáculo à aplicação da tecnologia de vácuo é que industrialmente está pouco desenvolvida. Como a alta pressão pode acelerar processos de difusão^{28, 47}, poderá também acelerar o processo de demolha de bacalhau. Uma das vantagens em usar alta pressão em vez de vácuo é a amplitude da gama de pressões que podem ser usadas que é muito maior (até cerca de 6000 atm a nível industrial).

Assim, a alta pressão poderá ser uma solução interessante para acelerar o processo de demolha já que o seu efeito é moderado a nível de transformações organolépticas no produto para pressões relativamente baixas (<200 MPa) e também já foi reportado na literatura que a alta pressão pode aumentar a permeabilidade das células promovendo e facilitando o processo de difusão de iões e água através das membranas celulares⁵¹. Em termos práticos, isto é sustentado na literatura por alguns processos em que se aplicou pressão de modo a acelerar a difusão de água e solutos, tanto em impregnação de água em arroz⁵¹, como impregnação de açúcar e saída de água em ananás⁵² e batata⁵³, e também aceleração do processo de salga em peito de peru²⁸.

1.3. Transferência de massa – teoria

No processo de transferência de massa que ocorre durante a demolha do bacalhau, verifica-se que a *driving force* da difusão de água da solução para os tecidos, e do sal em sentido inverso, é determinada pelas diferenças de pressões osmóticas entre o peixe e a solução.

Para modelizar o processo de transferência de massa, isto é, saída de sal e entrada de água durante a demolha, há que considerar que o processo decorre através de membranas celulares semipermeáveis e que segue a da segunda lei de Fick. Este modelo depende da geometria do material a estudar. Neste trabalho experimental, estudou-se o fenómeno de transferência de massa para um paralelepípedo rectangular finito (de medidas, 2a, 2b, 2c). Das seguintes equações, é possível determinar o coeficiente de difusidade efectivo para a água e sal, D_{ew} e D_{es} , respectivamente⁵⁴.

$$Mr = \frac{(m_t - m_\infty)}{(m_0 - m_\infty)} = \sum_{n=1}^{\infty} C_n \exp \left[-D_{ew} t q_n \left(\frac{1}{\left(\frac{a}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{b}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{c}{2}\right)^2} \right) \right] \quad [1]$$

$$Sr = \frac{(s_t - s_\infty)}{(s_0 - s_\infty)} = \sum_{n=1}^{\infty} C_n \exp \left[-D_{es} t q_n \left(\frac{1}{\left(\frac{a}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{b}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{c}{2}\right)^2} \right) \right] \quad [2]$$

De acordo com Rastogi *et al.* (2007)²⁸, Mr e Sr representam o rácio de quantidade de água e soluto difundidos, respectivamente, num determinado tempo, t ; m_t e s_t representam o conteúdo de água e soluto em base de sólidos insolúveis (SI) iniciais, ou seja, em g NaCl/g SI e em g H₂O/g SI.

Os símbolos 0 e ∞ (ou inf) simbolizam os tempos zero e o tempo no estado equilíbrio, respectivamente.

O valor de C_n , é expresso pela seguinte equação⁵⁴,

$$C_n = \frac{2\alpha(1+\alpha)}{(1+\alpha+\alpha^2 q_n^2)} \quad [3]$$

Em que q_n representa as raízes positivas não nulas, da seguinte função,

$$\tan q_n = -\alpha q_n \quad [4]$$

E α representa o rácio de volume de solução de demolha / volume da amostra.

Quando o número de Fourier, F_o , é maior que 0,1, apenas o primeiro termo, $n=1$, das equações anteriores é significativa, podendo ser os outros termos negligenciados. O número de Fourier é expresso pela seguinte equação,

$$F_o = \frac{D_e t}{A^2} \quad [5]$$

Com esta aproximação, das equações 1 e 2 pode-se obter os coeficientes de difusividade efectiva para a água e o soluto NaCl. Ao linearizar as equações, logaritmando-as em função do tempo de demolha t , obtém-se:

$$-\ln\left(\frac{M_r}{C_1}\right) = q_1 \frac{D_{ew}}{A^2} t \quad [6]$$

$$-\ln\left(\frac{S_r}{C_1}\right) = q_1 \frac{D_{es}}{A^2} t \quad [7]$$

Para a configuração de paralelepípedo usada, A^2 é definido por,

$$\frac{1}{A^2} = \frac{1}{\left(\frac{a}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{b}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{c}{2}\right)^2} \quad [8]$$

Assim é possível calcular os coeficientes de difusividade efectiva permitindo determinar a velocidade a que ocorre o processo de demolha, em termos da difusão do sal para a água de demolha e da difusão da água para o bacalhau.

Este método tem uma desvantagem, pois o valor de m_∞ e s_∞ têm que ser estimados noutra passo. Uma outra possibilidade para obter os valores de D_{ew} e D_{es} e que permite

Parte I. Revisão Bibliográfica

também estimar ao mesmo tempo m_∞ e s_∞ , consiste em usar uma regressão não linear⁵³ utilizando um programa de estatística (neste trabalho utilizou-se o *MATLAB software, The MathWorks, Inc., MA, USA*). Utilizando as equações 1 e 2 e os pressupostos mencionados anteriormente, estas podem ser transformadas em:

$$m_t = C_1 \exp \left[-D_{ew} t q_1 \left(\frac{1}{\left(\frac{a}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{b}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{c}{2}\right)^2} \right) \right] (m_0 - m_\infty) + m_\infty \quad [9]$$

$$s_t = C_1 \exp \left[-D_{es} t q_1 \left(\frac{1}{\left(\frac{a}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{b}{2}\right)^2} + \frac{1}{\left(\frac{c}{2}\right)^2} \right) \right] (s_0 - s_\infty) + s_\infty \quad [10]$$

Assim, por regressão não linear pode-se obter as difusidades efectivas, D_{ew} e D_{es} , assim como o conteúdo de água no equilíbrio, m_∞ e o conteúdo de sal no equilíbrio s_∞ .

1.4. Objectivos

O objectivo principal deste trabalho foi analisar o efeito da alta pressão hidrostática no processo de demolha do bacalhau, concretamente na difusão de água e de sal, de modo a avaliar a possibilidade da alta pressão poder ser usada para acelerar o processo de demolha, diminuindo assim o tempo necessário à demolha.

O efeito da temperatura e do rácio entre volume de água de demolha/ volume de amostra no processo de demolha, foram definidos como objectivos secundários do trabalho.

Parte II. Metodologia

2.1. *Preparação amostras de bacalhau*

As amostras de bacalhau salgado (*Gadus morhua*) foram adquiridas localmente e mantidas sob refrigeração a 4°C. Às postas foram retiradas a pele e apenas as partes sem espinhas foram aproveitadas. Estas foram cortadas em pedaços com peso aproximado de 4 a 5 g com uma configuração paralelepípedica de 2,25 x 1,5 x 1 cm e volume total de 3,375 mL.

2.2. *Operação da demolha de bacalhau*

Ao longo dos ensaios de demolha, cada amostra foi imersa em água da torneira controlando-se diferentes parâmetros, tais como, temperatura em banho termostatzado, tempo, pressão e relação volume de amostra/volume de água de demolha. Ao invés de água destilada, utilizou-se água da torneira para reproduzir as condições empregues à escala industrial.

Para os testes à pressão atmosférica, a operação de demolha foi realizada em frascos, de modo a que a amostra de bacalhau ficasse centrada em relação ao volume de água de demolha, como mostra a figura seguinte.

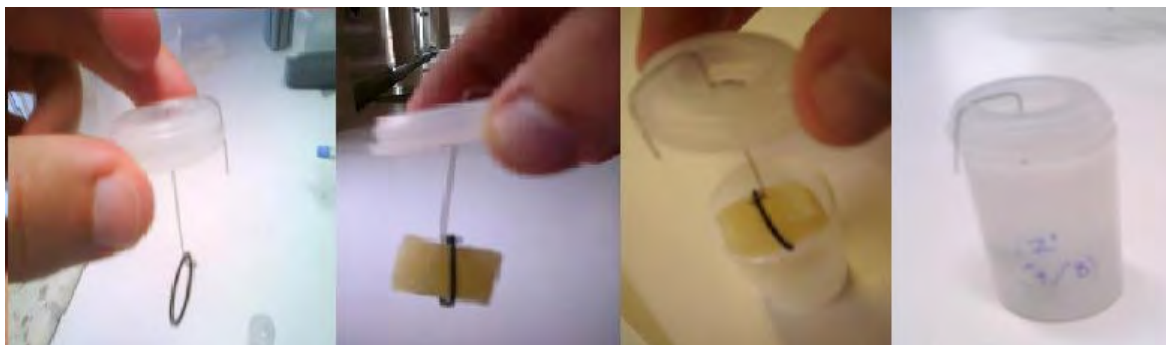


Figura 8 – Método utilizado para a demolha de bacalhau à pressão atmosférica

2.3. *Determinação do conteúdo de H₂O*

A determinação da percentagem de água presente nas amostras foi baseada no protocolo da AOAC⁵⁵ com ligeiras modificações. Depois de se terem colocado as amostras de bacalhau (em duplicado) diferentes tempos a demolhar, estas foram pesadas. Posteriormente, foram colocadas numa estufa a 105±1 °C durante 4 horas, seguidamente

Parte II. Metodologia

foram transferidas para um excicador até arrefecerem e então foram pesadas. Verificou-se em testes preliminares que após quatro horas na estufa a 105 °C, um segundo período de quatro horas a 105 °C já não tinha efeito significativo na variação de peso das amostras. Assim, apenas se submeteu as amostras durante 4 horas na estufa a 105°C para determinação do conteúdo de água. Os valores são expressos em g de água / g SI.

2.4. *Determinação actividade da água (a_w)*

Para a determinação da actividade da água, a_w , as amostras de bacalhau foram esmagadas ligeiramente, e de seguida foram colocadas em pequenos tubos (1 cm diâmetro x 4 cm altura) como se exemplifica na figura. De seguida, mediu-se com um higrómetro, Rotronic Hygroskop DV-2 hygrometer, a respectiva actividade da água ao fim de 20 minutos de estabilização da atmosfera envolvente. Os tubos estavam selados de modo a que não houvesse trocas com a atmosfera exterior.



Figura 9 – Método utilizado para medição da actividade da água

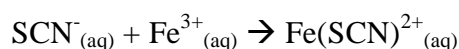
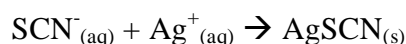
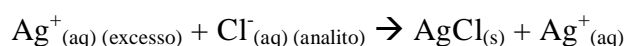
2.5. *Estimativa da quantidade de NaCl pelo método condutivimétrico*

A medição da condutividade foi utilizada tanto para água de demolha directamente, como para o bacalhau, depois de triturar a amostra e filtrá-la, colocando o condutivímetro na solução a uma temperatura controlada. O NaCl presente foi determinado baseando-se numa recta de calibração entre 0 e 5 % de NaCl, que relaciona a condutividade em função da % de NaCl. Deste modo, obtinha-se uma estimativa rápida da quantidade de NaCl, o que permitia verificar se a demolha já tinha atingido o equilíbrio ou se devia ser continuada.

2.6. *Determinação do conteúdo de NaCl pelo método químico*

A quantificação do NaCl, após a estimativa obtida pela medição de condutividade, foi realizada pelo método de Volhard⁵⁶. Depois da amostra de bacalhau ter sido demolhada, foi triturada com um Ultraturrax durante 2 minutos. De seguida, a amostra foi filtrada a vácuo fazendo várias lavagens com água destilada de modo a arrastar todo o NaCl presente na mesma. Após a filtração, a solução foi colocada num balão volumétrico de 100 mL, perfazendo-se o volume com água destilada.

A 5-10 mL de amostra, adicionou-se AgNO₃ 0,1 M em excesso (5-10 mL), que levou à precipitação dos iões cloreto na forma de AgCl_(s). Com uma solução de KSCN 0,1 M titulou-se com uma microbureta, *Crison micro Bu 2031*, os iões Ag⁺ que estavam em excesso e que não precipitaram, determinando-se assim os iões Cl⁻ presentes na amostra. As reacções envolvidas neste método são:



Foi usado o indicador alúmen férrico, FeNH₄(SO₄)₂.12H₂O num meio acidificado com ácido nítrico diluído, que na presença de iões SCN⁻, forma Fe(SCN)²⁺ que tem tonalidade laranja. Assim quando todos os iões prata são titulados, a solução fica com uma tonalidade laranja, sendo esse o ponto final da titulação. O conteúdo em sal foi expresso em g de NaCl/gSI, utilizando-se duas réplicas para determinação do NaCl.

2.7. *Tratamentos de alta pressão*

Os tratamentos de alta pressão foram feitos num aparelho da Universidade de Aveiro (Unipress Equipment, Modelo U33, Polónia). Este aparelho tem um vaso com capacidade para 100 mL tendo 35 mm de diâmetro e 100 mm de altura. O vaso tem uma camisa de termostatização externa ligada a um banho de termostatização para controlo de temperatura. O aparelho tem capacidade para atingir pressões de 700 MPa ~ 7000 atm.

Os ensaios de demolha de bacalhau sob alta pressão, foram iniciados à pressão atmosférica. As amostras de bacalhau e a água de demolha, em recipientes separados,

Parte II. Metodologia

foram previamente submetidas num banho termostatzado à temperatura de interesse. Para iniciar a demolha sob pressão, as amostras foram imersas na água e acondicionadas em sacos de plástico com largura de 4 cm e altura de aproximadamente 9 cm. Seguidamente, os sacos foram colocados num aparelho de vácuo, *Albipack Packaging Solutions, Portugal*, onde ar foi retirado, com vácuo de 85% e selados a quente. Imediatamente após a selagem, colocou-se a amostra no vaso de pressão e pressurizou-se à pressão desejada, com uma taxa de compressão de 450 MPa/min, utilizando uma mistura de propilenoglicol água (60:40), como fluído de pressurização.

As experiências foram realizadas entre 50 e 300 MPa sob pressão e até 15 minutos. Após o tempo de pressurização despressurizou-se sendo esta descompressão quase imediata (menos de 5 segundos) até cerca de 20 MPa e depois mais 15 segundos até à descompressão total. Posteriormente, retirou-se o saco do vaso de pressurização e recolheu-se a amostra de bacalhau para análises posteriores. Amostras não pressurizadas, serviram como controlo, isto é, da demolha à pressão atmosférica.

Parte III. Resultados e Discussão

Com o objectivo de facilitar as experiências, tentou-se usar inicialmente um método rápido de quantificação de NaCl na água de demolha e no bacalhau. O método utilizado foi a medição da condutividade. Posteriormente, estudou-se o processo de demolha à pressão atmosférica e sob alta pressão hidrostática, variando vários parâmetros que afectam a demolha.

3.1. *Ensaio preliminares*

De modo a tentar obter um método mais rápido para quantificar a saída de NaCl do bacalhau para a água de demolha, estudou-se a possibilidade de quantificar o NaCl mediante a condutividade.

3.1.1. Quantificação de NaCl por condutividade

Para estudar a possibilidade de quantificar a percentagem de NaCl em soluções aquosas, prepararam-se soluções padrão de NaCl de 0 a 28% de NaCl (m/m) com água da torneira. Mediu-se posteriormente a condutividade das respectivas soluções à temperatura ambiente, a 30,0 °C e a 40,0 °C, usando como branco água da torneira (os resultados são apresentados na tabela seguinte).

Tabela 3 – Valores de condutividade, em mS/cm para soluções de NaCl com diferentes concentrações à temperatura ambiente, a 30,0 °C e a 40,0 °C

NaCl (%)	Temperatura ambiente Condutividade *mS/cm	30,0 °C Condutividade *mS/cm	40,0 °C Condutividade *mS/cm
0,5	9,24 (0,07)* ^a	11,00 (0,03)	13,31
1	17,49 (0,13)	21,1 (0,1)	23,9
2	30,7 (1,6)	37,4 (0,3)	43,6
3	41,6 (0,1)	51,7 (0,2)	57,5
4	51,4 (1,9)	62,6 (1,1)	71,2
5	62,4 (0,2)	72,1 (0,4)	81,2
6	70,6 (0,3)	81,2 (0,3)	90,6
7	78,2 (0,9)	88,4 (0,2)	97,8
8	81,0 (2,3)	103,0 (0,3)	---
12	97,1 (1,5)	112,8 (0,5)	124,7
16	107,6 (0,5)	129,5 (0,4)	139,3
20	113,4 (1,1)	130,9 (0,1)	140,6
24	119,1 (0,2)	134,6 (0,2)	143,7
28	121,7 (0,7)	137,6 (0,2)	147,2
*média de duas réplicas		* ^a entre parêntesis, desvio padrão	

Parte III. Resultados e Discussão

Tal como se observa pelo gráfico seguinte a condutividade não varia linearmente na gama de 0 a 28% de NaCl. Também, se verifica que as diferenças de condutividade são significativas às diferentes temperaturas, especialmente para maiores concentrações de NaCl. Isto é explicável devido à condutividade eléctrica aumentar com a temperatura.

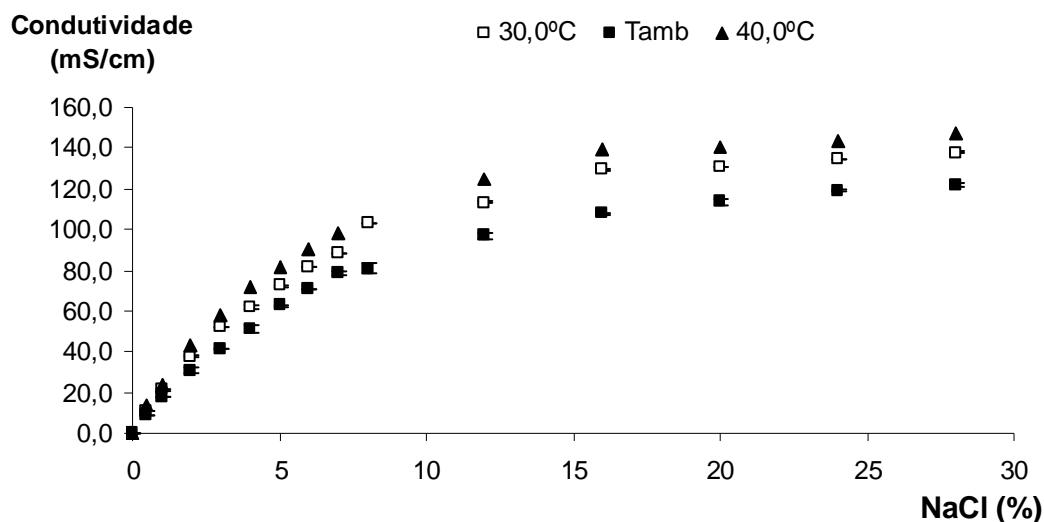


Figura 10 – Condutividade em função da concentração de NaCl à temperatura ambiente, a 30,0°C e 40,0°C (em todos os gráficos na tese os pontos representam os valores médios e as barras de erro o desvio padrão, salvo exceções indicadas)

Porém, na gama de 0,5 a 5% verifica-se que a condutividade varia linearmente em função da concentração de NaCl da solução (Figura 11). A recta obtida para a temperatura ambiente na gama linear é $y = 11,585x + 5,566$ com um coeficiente de correlação de 0,994.

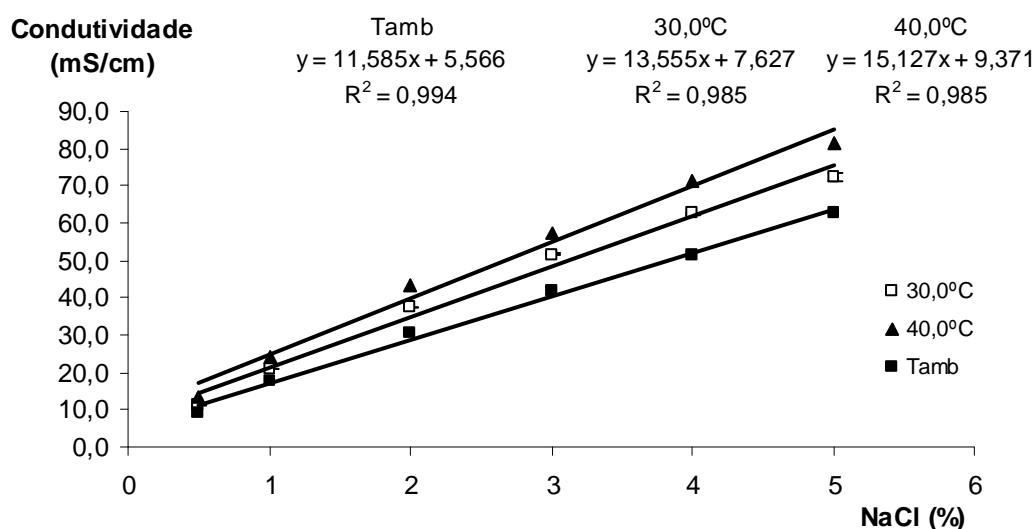


Figura 11 – Gama linear da condutividade em função da concentração de NaCl (%)

Na gama linear, isto é, de 0,5 a 5% de NaCl, também se verifica, que o declive aumenta com o acréscimo da temperatura da solução, o que seria expectável.

Mediante a realização de curvas de calibração é possível quantificar o conteúdo de NaCl presente na solução, para concentração entre 0,5 e 5% de NaCl. Esta quantificação, no entanto, só poderá ser efectuada mediante o controlo rigoroso da temperatura da solução.

Para verificar a possibilidade de usar a medição de condutividade, para uma quantificação rápida do NaCl, a correlação entre o método de Volhard e o método condutivimétrico também foi estudada na gama linear obtendo-se os seguintes valores, onde se pode verificar que os valores obtidos pelo método químico são menores.

Tabela 4 – Valores do conteúdo de NaCl para os dois métodos em estudo

Soluções Padrão (%NaCl)	%NaCl pelo método condutivimétrico	%NaCl pelo método de Volhard	Diferença %
0,5	0,520	0,485	7,13
0,56	0,667	0,567	17,6
1	1,161	1,008	15,1
2	2,191	2,116	3,52
3	3,093	2,906	6,44
4	3,782	4,116	8,11

Graficamente, a percentagem de NaCl quantificada pelo método de químico em função da percentagem de NaCl quantificada pelo método condutivimétrico, resulta no seguinte gráfico.

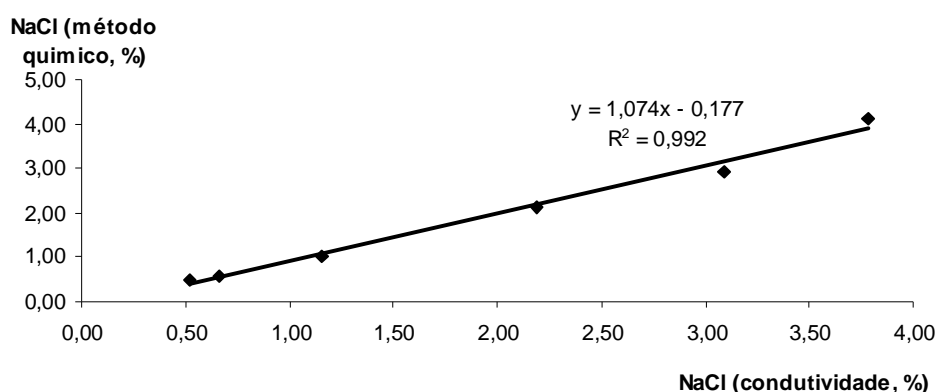


Figura 12 – Correlação da determinação de NaCl entre o método químico e o condutivimétrico

Verifica-se que o declive é muito próximo de 1 e um bom coeficiente de correlação, R^2 (0,992). Assim conclui-se que o método condutivimétrico pode ser usado como um

Parte III. Resultados e Discussão

método rápido e simples, à quantificação de NaCl até 5% de concentração. Contudo, para se aplicar o método condutivimétrico, a temperatura das soluções deve ser controlada.

3.1.2. Comparação entre o método químico e o método condutivimétrico em amostras de bacalhau

Uma vez que se verificou ser possível quantificar o conteúdo de NaCl em soluções aquosas pelo método condutivimétrico, procedeu-se ao estudo da quantificação de NaCl de amostras de bacalhau, pelo mesmo método e correlacionaram-se os resultados com o método químico. Para isso, depois de triturar e filtrar uma amostra de bacalhau seco salgado, registou-se a sua condutividade contra o branco (água da torneira). Posteriormente, com a recta de calibração para a temperatura ambiente, calculou-se a concentração de NaCl. Depois de quantificar a %NaCl pelo método condutivimétrico, quantificou-se utilizando o método químico de Volhard. Fez-se o mesmo para uma amostra de bacalhau demolhado (Tabela 5, Figura 13).

Tabela 5 – Valor da concentração NaCl de duas amostras de bacalhau pelo método condutivimétrico e pelo método químico

Tempo demolha (min)	Método Condutivimétrico %NaCl em 100g bacalhau	Método Volhard %NaCl em 100g bacalhau	Diferença (%)
0	18,23 ^a	14,00 ^a	30,2
0	18,09 ^a	14,33 ^a	26,2
0	22,04 ^b	16,69 ^b	32,1
0	15,89 ^c	17,79 ^c	-10,7
60	14,30	11,86	20,3
240	7,15	9,32	-23,3

a, b, c letras iguais indicam que a quantificação de NaCl foi realizada na mesma amostra

Pelos resultados obtidos, verifica-se que existe uma diferença elevada, para as mesmas amostras de bacalhau, entre os valores quantificados de NaCl pelo método de Volhard e pelo método condutivimétrico, sendo a diferença entre os dois métodos bastante elevada (entre 10 e 30%).

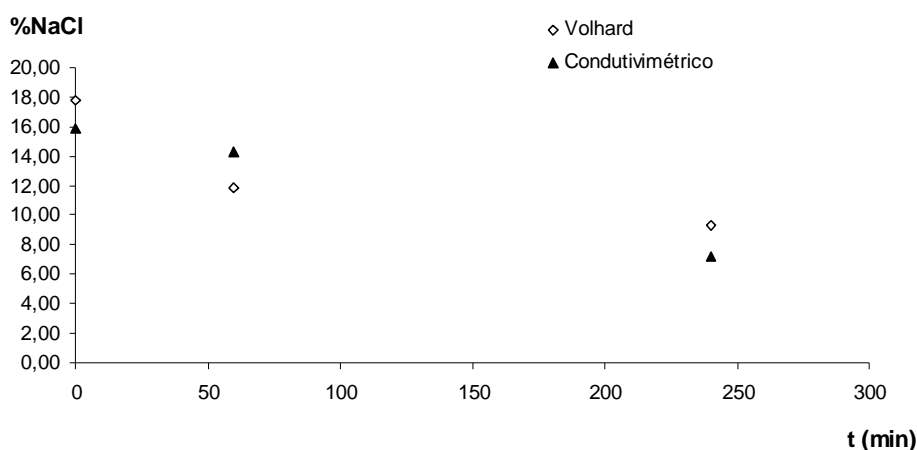


Figura 13 – Conteúdo de NaCl determinado pelos métodos condutivimétrico e de Volhard

Como se verifica na Figura 13 e nos valores correspondentes tabelados, para amostras que foram demolhadas também se verifica diferença entre os valores determinados de sal pelos dois métodos. Uma possível explicação para esta diferença de valores, é que mesmo depois de filtrar as amostras de bacalhau, verificava-se ainda a existência de fibras insolúveis em solução. Estas, poderiam de algum modo interferir com os eléctrodos do condutivímetro, afectando os resultados. Também a presença de outros iões no bacalhau pode afectar o valor da condutividade, levando à quantificação de um valor de NaCl superior ao real. Assim, na restante parte do trabalho usa-se o método de Volhard para quantificar o NaCl.

Apesar de o método condutivimétrico não ter sido usado para determinar em termos quantitativos a %NaCl, este foi utilizado para uma medição qualitativa, especialmente para determinar se o processo de transferência de massa já tinha atingido o equilíbrio, no que toca à difusão de sal.

3.2. *Estudo da demolha de bacalhau à pressão atmosférica*

Nesta parte do trabalho, avaliou-se o efeito da temperatura no processo de demolha (sal e de água) assim como o efeito da razão volume água demolha/volume amostra, ou seja, o parâmetro α .

3.2.1. **Efeito da temperatura no processo de demolha de bacalhau**

Geralmente, temperaturas mais altas favorecem a cinética de um processo de transferência de massa. Neste trabalho, avaliou-se o efeito da realização da demolha a 4,0,

Parte III. Resultados e Discussão

12,5 e 20,0°C, nos três casos com $\alpha=4$. A temperatura de 4,0°C foi escolhida com intuito de reproduzir as condições industriais, em que se utiliza a água de demolha a 4,0°C²⁰ de maneira a que reduza a carga bacteriológica do produto final. A temperatura de 20,0°C foi escolhida com o intuito de reproduzir as condições domésticas, já que normalmente o consumidor realiza a demolha à temperatura ambiente. A temperatura de 12,5°C foi escolhida por ser uma temperatura intermédia entre as duas anteriores. Para além destas razões, a temperatura de 20,0°C foi escolhida, porque no caso da demolha poder ser realizada sob alta pressão, haveria o interesse de poder fazer a demolha, usando o bacalhau que normalmente se encontra armazenado a 4,0°C e água à temperatura ambiente. Isto porque hoje a nível industrial, ainda é difícil e moroso ter controlo da temperatura em equipamentos de alta pressão. A temperatura de 12,5°C também foi escolhida para se terem resultados a pelo menos três temperaturas e poder correlacionar matematicamente algum efeito na demolha com a temperatura.

Por condutividade, verificou-se para as diferentes temperaturas, que o equilíbrio da transferência da água para o bacalhau e do sal para a água de demolha, foi atingido ao fim de aproximadamente 450 minutos ou 7 horas e 30 min (Tabela 6, Figura 14).

Tabela 6 – Valores de condutividade para os diferentes tempos de demolha

Tempo (min)	Condutividade/ massa (mS g ⁻¹ cm ⁻¹)		
	4,0°C	12,5°C	20,0°C
0	----	----	----
20	4,7	5,1	5,5
40	7,1	6,8	8,4
60	6,5	7,8	9,0
90	7,4	7,8	11,1
150	9,5	9,0	13,1
300	12,1	11,7	14,1
450	12,5	11,9	15,7
540	13,5	11,9	14,8
720	---	---	16,1
900	12,7	12,8	16,1
1020	13,6	12,9	---

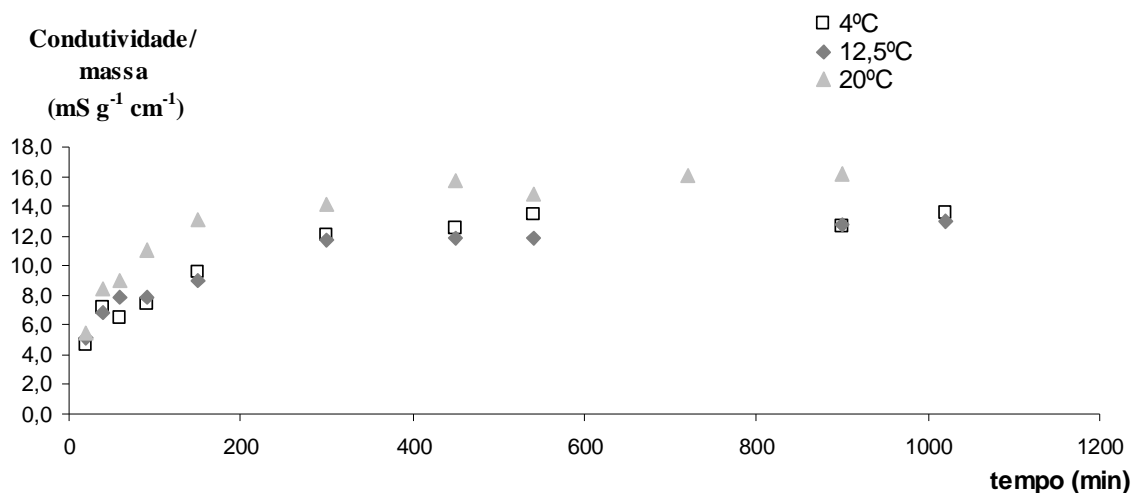


Figura 14 – Condutividade relativa em função do tempo de demolha a 4,0, 12,5 e 20,0°C

Para além da quantificação da condutividade, analisou-se para cada tempo o conteúdo de NaCl e H₂O, calculando-se o rácio do NaCl difundido, Sr, e de água difundida, Mr (Tabela 7, Figura 15 e Figura 16).

Tabela 7 – Rácio de água e NaCl difundidos durante a demolha a 4,0, 12,5 e 20,0°C

t (min)	4,0°C		12,5°C		20,0°C	
	Sr	Mr	Sr	Mr	Sr	Mr
0	1,000	1,0000	1,000	1,0000	1,000	1,0000
20	0,690 (0,048)	0,7413	0,483 (0,071)	0,6433	0,840 (0,010)	0,6391
40	0,413 (0,039)	0,5788	0,348 (0,077)	0,6248	0,564 (0,013)	0,5641
60	0,500 (0,046)	0,5677	0,352 (0,077)	0,4797	0,630 (0,052)	0,5246
90	0,380 (0,011)	0,4514	0,263 (0,048)	0,4304	0,532 (0,011)	0,4050
150	0,240 (0,025)	0,3830	0,154 (0,018)	0,3775	0,348 (0,009)	0,2159
300	0,052 (0,039)	0,2115	0,015 (0,025)	0,1662	0,240 (0,006)	0,1092
450	0,044 (0,023)	0,1802	0,000 (0,084)	0,1741	0,105 (0,011)	0,0460
540	-0,038 (0,063)	0,0427	-0,010 (0,043)	0,1591	0,022 (0,004)	0,0506
720	---	---	---	---	-0,033 (0,012)	-0,0148
900	0,004 (0,002)	0,0068	-0,077 (0,045)	-0,0573	-0,028 (0,006)	-0,0842
1020	-0,024 (0,009)	-0,0823	-0,036 (0,012)	-0,1027	---	---

Nestes primeiros resultados obtidos, apenas se utilizaram réplicas para a determinação de NaCl, porque se estava a iniciar o trabalho, e a optimização dos procedimentos experimentais ainda estavam em decurso. A Figura 15 apresenta as variações de Mr em função do tempo.

Parte III. Resultados e Discussão

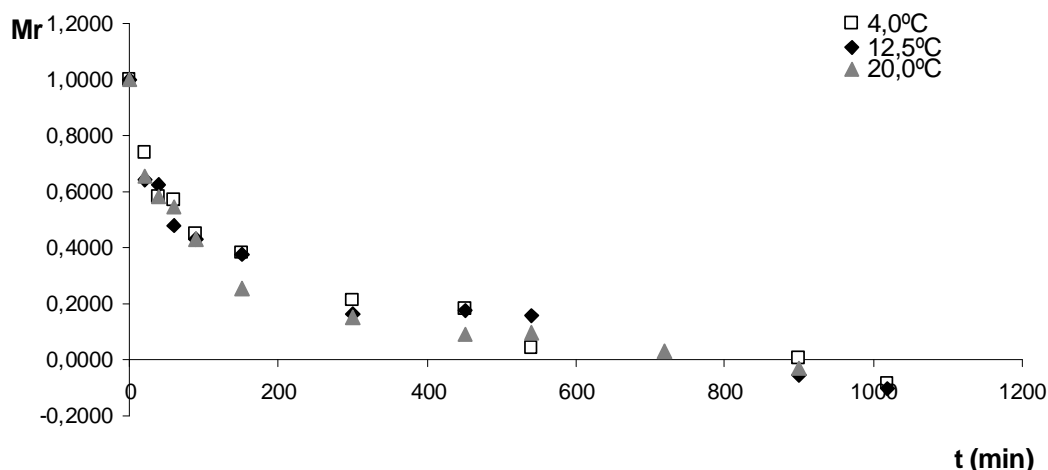


Figura 15 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha a 4,0, a 12,5 e 20,0°C

Como se verifica no figura, ao fim de aproximadamente 700-800 minutos, o equilíbrio foi atingido. Isto porque a partir deste tempo, o rácio tem valor próximo de zero, demonstrando que não há mais entrada de água para o músculo do bacalhau.

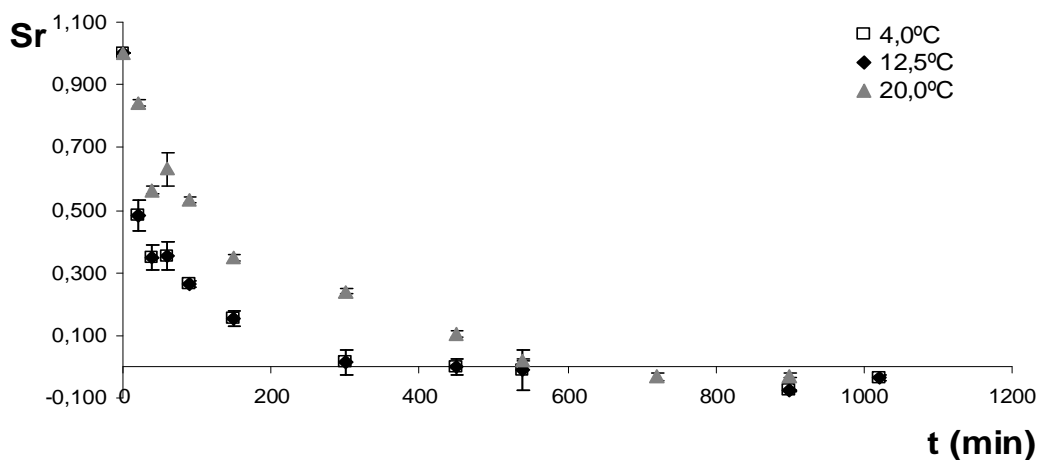


Figura 16 – Rácio NaCl difundido em função do tempo de demolha a 4,0, 12,5 e 20,0°C

A partir da Figura 16, pode-se concluir que a difusão de sal do bacalhau para a água de demolha atinge o equilíbrio mais cedo que para o caso da difusão da água para o bacalhau, após cerca de 450 minutos.

Como foi descrito no ponto 1.3, o conteúdo em água e NaCl no equilíbrio e os coeficientes de difusão respectivos, foram calculados a partir de uma regressão não linear, tendo sido confirmado que este procedimento permite obter valores que descrevem os valores experimentais obtidos, quer pelo valor de R^2 obtido, quer comparando os valores

Parte III. Resultados e Discussão

experimentais e os previstos para o modelo. Os coeficientes de difusão e os conteúdos no equilíbrio, que estão apresentados nas tabelas seguintes e na Figura 17 e Figura 18.

Tabela 8 – Coeficientes de difusão e conteúdos iniciais e no equilíbrio para água a diferentes temperaturas (\pm intervalo de variação a 95% de confiança)

Temperatura (°C)	$D_{ew} \times 10^{10}$ (m ² /s)	minf (gH ₂ O/ gSI)	R ²	m0 (gH ₂ O/ gSI)
4,0	6,92 \pm 2,82	3,0257 \pm 0,1164	0,998	1,7918
12,5	7,48 \pm 3,35	3,2061 \pm 0,1382	0,998	1,8596
20,0	10,8 \pm 3,45	3,0858 \pm 0,0850	0,999	1,8289

Tabela 9 – Coeficientes de difusão e conteúdos iniciais e no equilíbrio para a água e NaCl a diferentes temperaturas (\pm intervalo de variação a 95% de confiança)

Temperatura (°C)	$D_{es} \times 10^{10}$ (m ² /s)	sinf (gNaCl/ gSI)	R ²	s0 (gNaCl/ gSI)
4,0	12,6 \pm 3,70	0,165 \pm 0,005	0,990	0,582
12,5	22,0 \pm 8,00	0,189 \pm 0,034	0,989	0,671
20,0	7,58 \pm 3,32	0,139 \pm 0,037	0,987	0,503

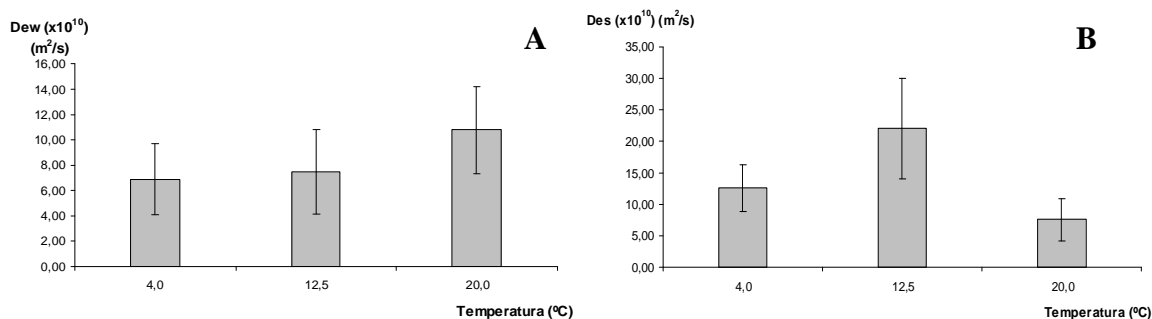


Figura 17 – Coeficientes de difusão da água (A) e do sal (B) em função da temperatura de demolha

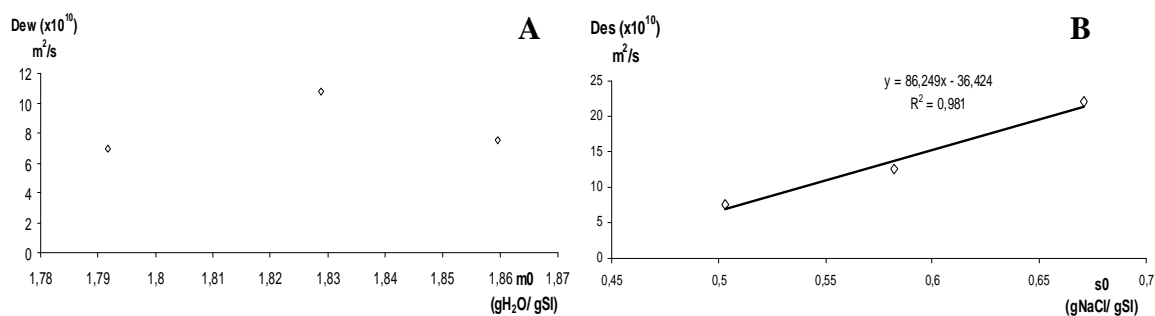


Figura 18 – Coeficientes de difusão da água / sal em função do conteúdo inicial de água (A)/ sal (B)

Parte III. Resultados e Discussão

Em termos absolutos, a amostra de bacalhau inicial (que não foi demolhada), continha entre 1,7918 e 1,8596 gH₂O/ gSI (m₀). No equilíbrio, a amostra continha entre 3,0257 a 3,2061 gH₂O/ gSI (m_{inf}). Em termos percentuais equivale a aproximadamente 56% de água no bacalhau seco e 80% no equilíbrio (no fim da demolha), o que está de acordo com os valores descritos na literatura³⁰.

Em termos de NaCl, as amostras de bacalhau, inicialmente continham entre 0,503 e 0,671 gNaCl/ gSI, equivalendo a 14-15% de NaCl. No equilíbrio, as amostras continham entre 0,139 e 0,189 gNaCl/gSI, equivalendo em termos percentuais a aproximadamente 3%. As amostras que se encontravam no equilíbrio, estavam em termos de conteúdo de sal, aceites para ser comercializadas, isto porque, o bacalhau demolhado é comercializado com valores de sal entre 0,5 a 3% (informação fornecida por uma empresa local).

Como se verifica nas figuras acima, os coeficientes de difusão para a água têm uma leve tendência para aumentar com a temperatura. Os coeficientes de difusão para o NaCl são superiores a 12,5°C. Contudo, o valor inicial de sal era diferente nos três casos. Os de D_{es} variam linearmente com o valor inicial de sal (Figura 18B). Este resultado aponta que o efeito do s₀ seja superior ao da temperatura, nas condições estudadas. No caso de D_{ew}, este não varia linearmente com o conteúdo inicial de água (Figura 18A), uma vez que a variação do m₀ é muito pequena entre as diferentes amostras, apontando assim que o ligeiro aumento do D_{ew} deve-se ao aumento da temperatura.

Os valores obtidos não são possíveis de comparar com valores da literatura dada a inexistência de valores para demolha de bacalhau. Assim, comparou-se com salga de Perú em que a 25,0 °C ($\alpha=6$), o D_{es} foi 5,2x10⁻⁹ e D_{ew} 2,8x10⁻⁹ m²/s. Apesar de os processos serem diferentes e as condições experimentais também, os valores diferem apenas uma ordem de grandeza²⁸.

Importa referir que se realizou para a temperatura de 20,0°C, o cálculo dos coeficientes de difusão pelo modelo linear (m_∞ e s_∞ foram estimados mediante a média dos últimos 3 tempos de demolha), que são comparados na tabela seguinte.

Tabela 10 – Valores dos coeficientes de difusão calculados pelo modelo linear e não linear

	D _{ew} (m ² /s)	R ²	D _{es} (m ² /s)	R ²
Modelo Linear	1,04x10 ⁻⁹	0,958	6,66 x10 ⁻¹⁰	0,905
Modelo Não Linear	1,08x10 ⁻⁹	0,999	7,58x10 ⁻¹⁰	0,987

Comparando os valores dos coeficientes de difusão calculados pelos modelos linear e não linear, conclui-se que estes estão dentro do intervalo de <95% de confiança dos valores obtidos pelo método não-linear. Utilizou-se assim o modelo não linear visto que também permite estimar o conteúdo em NaCl e H₂O no equilíbrio de forma mais expedita.

Os conteúdos em água e sal no equilíbrio são apresentados na Figura 19 em função da temperatura. Como se pode ver, não existe uma tendência definida. Contudo, como se usaram amostras de bacalhau com diferentes conteúdos de sal e água, analisou-se também o conteúdo em água e sal no equilíbrio em função do respectivo conteúdo inicial (Figura 20).

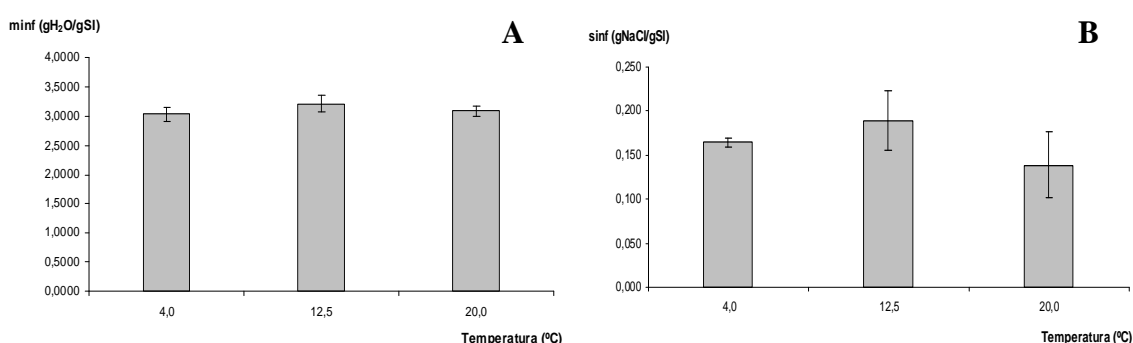


Figura 19 – Conteúdo de água (A) e NaCl (B) no equilíbrio em função da temperatura de demolha

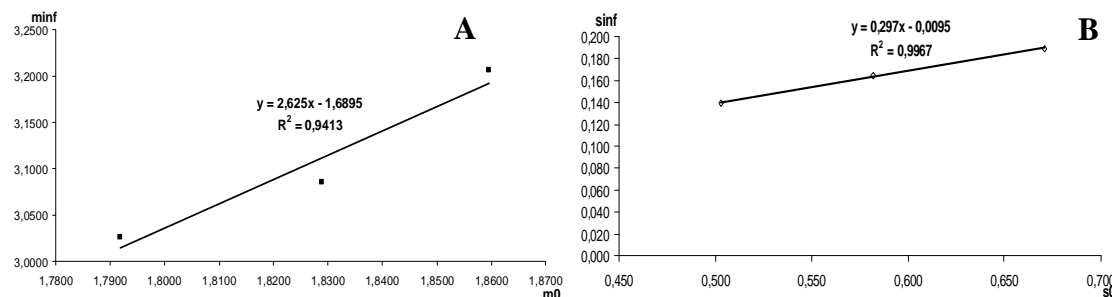


Figura 20 – Conteúdo de água (A) / NaCl (B) no equilíbrio em função do conteúdo inicial respectivo

Como se pode ver, o conteúdo em água e sal no equilíbrio está relacionado com o conteúdo inicial. Esta situação é expectável, dado que para o mesmo valor de α , o conteúdo de água e sal no equilíbrio osmótico, dependerá do valor inicial. Neste ponto é pertinente explicar a razão para a utilização de amostras de bacalhau com conteúdos de sal e água diferentes. Estas experiências foram realizadas de modo intercalado com as experiências sob pressão, para tirar partido da disponibilidade do aparelho da alta pressão. Pode-se concluir pela Figura 20, que o efeito do conteúdo inicial de água parece ser superior ao

Parte III. Resultados e Discussão

efeito da temperatura, isto é, as diferenças do conteúdo inicial água que se apresentam entre diferentes amostras, é que influenciam maioritariamente o conteúdo final de água. No caso do conteúdo no equilíbrio de NaCl, a correlação entre o conteúdo de NaCl no equilíbrio e no início, apresentada na Figura 20, também indica que o efeito de s_0 parece ser superior ao efeito da temperatura, nas condições estudadas. Estes resultados apontam para que o efeito da temperatura seja pequeno.

Como foi referenciado na introdução, a saída de proteínas solúveis e gordura são negligenciadas, durante a demolha. Fez-se a determinação para a temperatura de 12,5°C de modo a verificar se tal ocorria no presente caso.

Para isso, avaliou-se a variação da massa total da amostra (ΔM), determinada pela sua variação de peso inicial e a variação de sal (ΔM^{NaCl}) e água ($\Delta M^{\text{H}_2\text{O}}$). A variação de massa total da amostra será o somatório da variação de NaCl, água e outros componentes, nomeadamente proteínas.

Tabela 11 – Valores dos balanços de massa total, para NaCl, para H₂O, e proteína

t (min)	ΔM^{NaCl}	$\Delta M^{\text{H}_2\text{O}}$	ΔM	$\Sigma(\Delta M^{\text{NaCl}} + \Delta M^{\text{H}_2\text{O}})$	$\Delta^{\text{prot}*}$
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	-0,052	0,144	0,070	0,091	-0,022
40	-0,066	0,151	0,081	0,085	-0,004
60	-0,039	0,209	0,108	0,170	-0,063
90	-0,051	0,229	0,128	0,178	-0,050
150	-0,067	0,251	0,137	0,184	-0,046
300	-0,087	0,336	0,206	0,249	-0,043
450	-0,087	0,332	0,222	0,245	-0,023
540	-0,089	0,338	0,226	0,249	-0,023
900	-0,099	0,426	0,303	0,327	-0,024
1020	-0,094	0,444	0,304	0,350	-0,046

* Δ^{prot} significa a variação de massa devida à perda de proteínas e outros componentes, que não o sal e nem a água, para a água de demolha

[^]Valores apresentados por g bacalhau

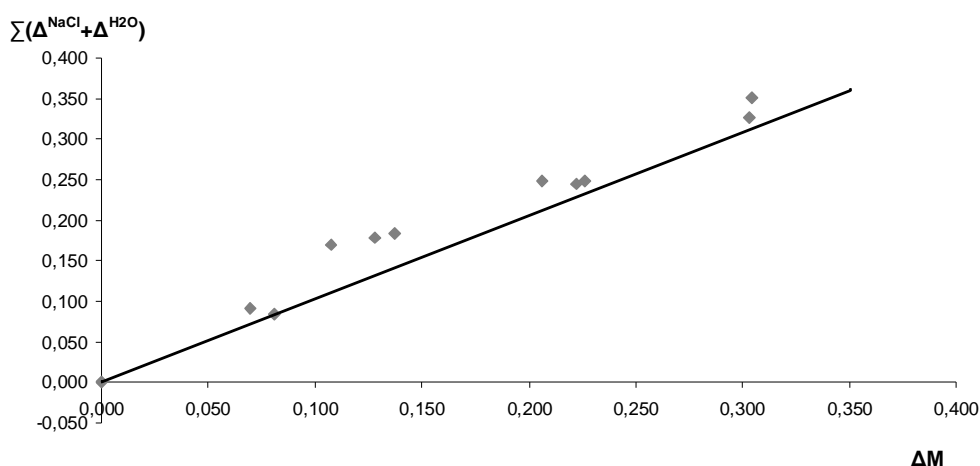


Figura 21 – Somatório dos balanços de massa para água e sal em função do balanço de massa total

Como se verifica na Figura 21 e na Tabela 11, a fracção proteica pode ser negligenciada, isto porque, comparando com o peso da amostra inicial de bacalhau é pequena (no máximo cerca de 6%). Ao analisar o gráfico, comprova-se que o declive é muito próximo de 1 (recta do gráfico representa $y=x$). Estas ligeiras alterações devem-se a pequenos fragmentos de fibras musculares que se perdiam para a água de demolha, uma situação que também foi referida noutro trabalho (Barat *et al.*, 2004³⁵). Esta pequena perda de fibras é favorecida pelo facto de se ter cortado o bacalhau para obter os paralelepípedos. É importante referir que a perda de fibras é independente do tempo de demolha já que não há uma tendência do aumento de perdas.

Depois de analisar o processo de transferência de massa às três temperaturas, também se analisou a actividade da água das amostras que foram demolhadas e respectivos conteúdos em água, obtendo-se os seguintes valores (Tabela 12, Figuras 22 e 23)

Parte III. Resultados e Discussão

Tabela 12 – Valores de actividade da água e respectivo conteúdo de água a 4,0, 12,5 e 20,0°C

t (min)	4,0°C		12,5°C		20,0°C	
	a _w	mt (gH ₂ O/ g SI)	a _w	mt (gH ₂ O/ g SI)	a _w	mt (gH ₂ O/ g SI)
0	0,548	1,7918	0,686	1,8596	0,676	1,8289
20	0,700	2,1111	0,691	2,3398	0,800	2,2825
40	0,772	2,3116	0,805	2,3648	0,820	2,3768
60	0,718	2,3253	0,802	2,5602	0,815	2,4265
90	0,752	2,4689	0,813	2,6265	0,790	2,5767
150	0,761	2,5533	0,803	2,6978	0,823	2,8144
300	0,769	2,7650	0,803	2,9824	0,869	2,9485
450	0,819	2,8035	0,813	2,9716	0,833	3,028
540	0,753	2,9733	0,797	2,9918	0,856	3,0222
720	---	---	---	---	0,855	3,1044
900	0,818	3,0176	0,806	3,2832	0,853	3,1917
1020	0,807	3,1276	0,862	3,3444	---	---

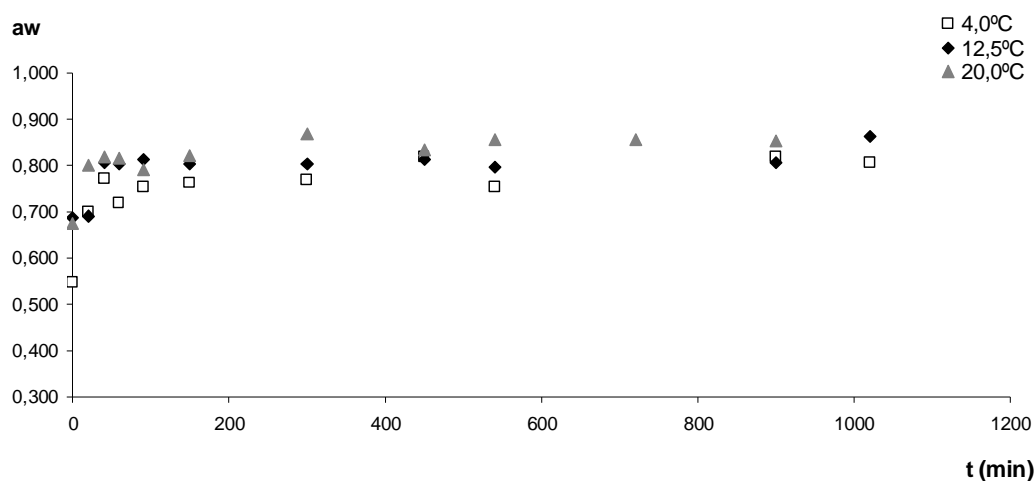


Figura 22 – Actividade da água em função do tempo de demolha a 4,0, 12,5 e 20,0°C

Os valores de actividade da água das amostras ao longo da demolha, estabilizaram logo nos primeiros minutos, passando de entre 0,548 a 0,686 em bacalhau seco salgado, para 0,772 a 0,820 em apenas 40 minutos, sendo ao fim de 1020 minutos aproximadamente 0,850. Isto sugere que pequenas variações na quantidade de água/sal alteram bastante a actividade da água.

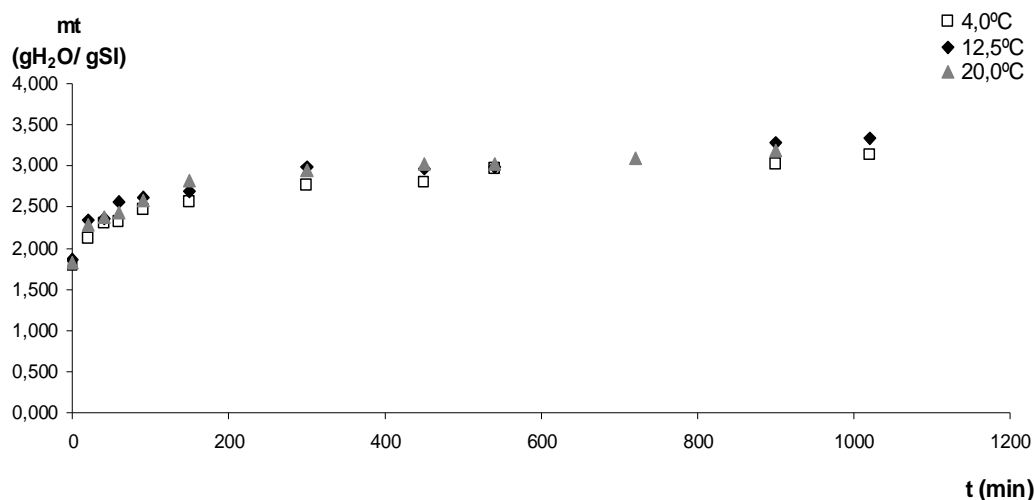


Figura 23 – Conteúdo de água (gH₂O/g SI) em função do tempo de demolha para 4,0, 12,5 e 20,0°C

Como se pode ver na Figura 24, a actividade da água está relacionada com o conteúdo em água: à medida que o conteúdo de água aumenta, a actividade da água também aumenta. Conclui-se também que, a actividade da água está correlacionada com o conteúdo de água das amostras, o que seria expectável já que o aumento do conteúdo de H₂O nas amostras, faz com que haja mais água livre.

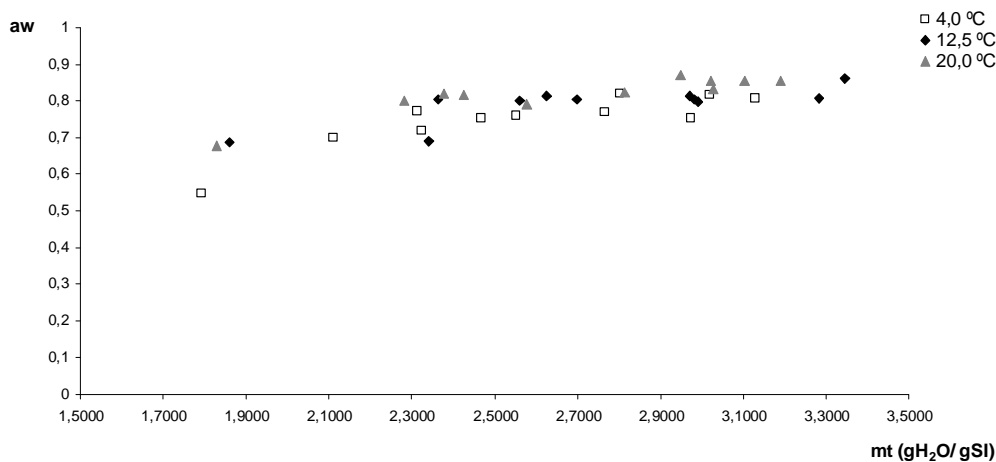


Figura 24 – Actividade da água em função do conteúdo de água para 4,0, 12,5 e 20,0°C

3.2.2. Efeito do α no processo de demolha de bacalhau à pressão atmosférica

Depois de estudar o efeito da temperatura na cinética da demolha de bacalhau, estudou-se o efeito de α . Realizou-se então uma demolha a 20,0°C em que o α era igual a 2 e comparou-se com o $\alpha=4$ já apresentado (Tabela 13 e Figuras 25 e 26).

Parte III. Resultados e Discussão

Tabela 13 – Rácio de água e NaCl difundidos durante a demolha a 20,0°C, factor $\alpha=2$

Tempo (min)	Sr	Mr
0	1,000 (0,000)	1,0000 (0,0000)
30	0,676 (0,036)	0,4919 (0,0022)
60	0,275 (0,058)	0,4013 (0,0083)
120	0,217 (0,015)	0,1602 (0,0323)
240	0,002 (0,102)	0,0913 (0,0181)
360	-0,021 (0,018)	0,1035 (0,0022)
540	0,008 (0,035)	0,0755 (0,0136)
720	0,006 (0,004)	0,0492 (0,0200)

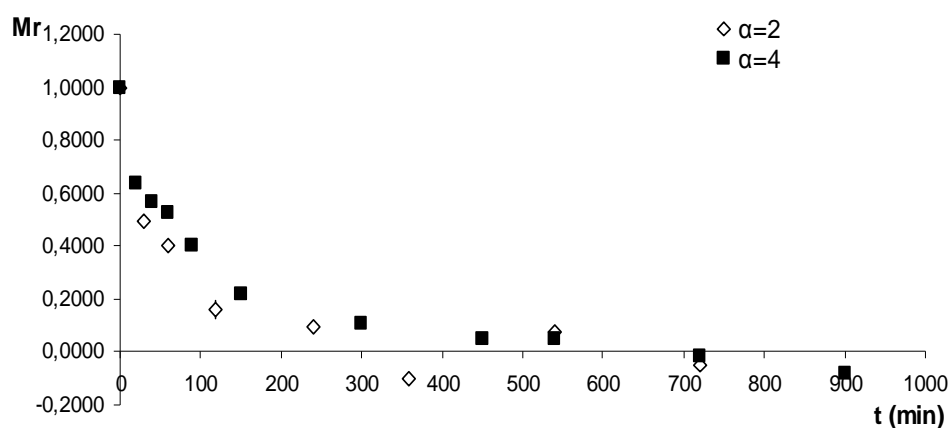


Figura 25 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha a 20,0°C

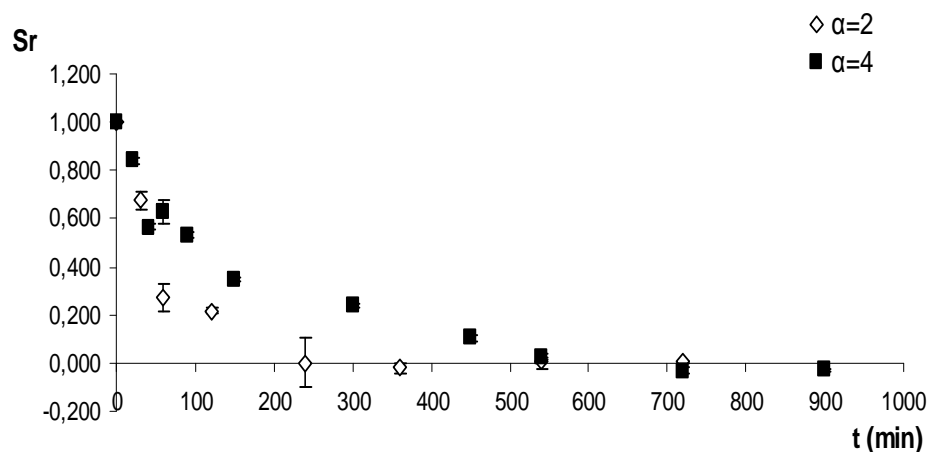


Figura 26 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha a 20,0°C

Analisando as figuras relativos aos rácios de difusão de água e NaCl para $\alpha=2$, verifica-se que o equilíbrio é atingido por volta dos 300 minutos, concluindo-se que a difusão foi mais rápida quando comparando com a demolha a 20,0°C, $\alpha=4$.

Como se pode ver na Tabela 14 o coeficiente de difusão para a água é superior para $\alpha=2$ (embora não estatisticamente significativo, devido ao valor elevado do erro para $\alpha=2$) e o conteúdo no equilíbrio inferior. Contudo, como se observa para o efeito da temperatura, como o conteúdo inicial era diferente, os resultados podem estar influenciados por este facto.

Tabela 14 – Coeficientes de difusão e conteúdos iniciais e no equilíbrio para água para $\alpha=2$ e 4

α	Dew x 10 ¹⁰ (m ² /s)	minf (gH ₂ O/ gSI)	R ²	m0 (gH ₂ O/ gSI)
2	18,3±7,20*	2,4759±0,0779	0,9985	1,4963
4	10,8±3,45	3,0858±0,0850	0,9987	1,8289

*Erros com intervalo de confiança de 95%

Tabela 15 – Coeficientes de difusão e conteúdos iniciais e no equilíbrio para NaCl para $\alpha=2$ e 4

α	Des x 10 ¹⁰ (m ² /s)	sinf (gNaCl/ gSI)	R ²	s0 (gNaCl/ gSI)
2	17,5±7,40	0,245±0,020	0,9950	0,480
4	7,58±3,32	0,139±0,037	0,9874	0,503

*Erros com intervalo de confiança de 95%

Para o caso do NaCl, o conteúdo no equilíbrio é menor para $\alpha=4$, como esperado. Neste caso o conteúdo de sal inicial era semelhante para as duas amostras.

Os coeficientes de difusão para o sal e para a água diminuíram com aumento de α , embora esta variação não seja estatisticamente significativa (Figura 27), devido ao erro elevado para $\alpha=2$.

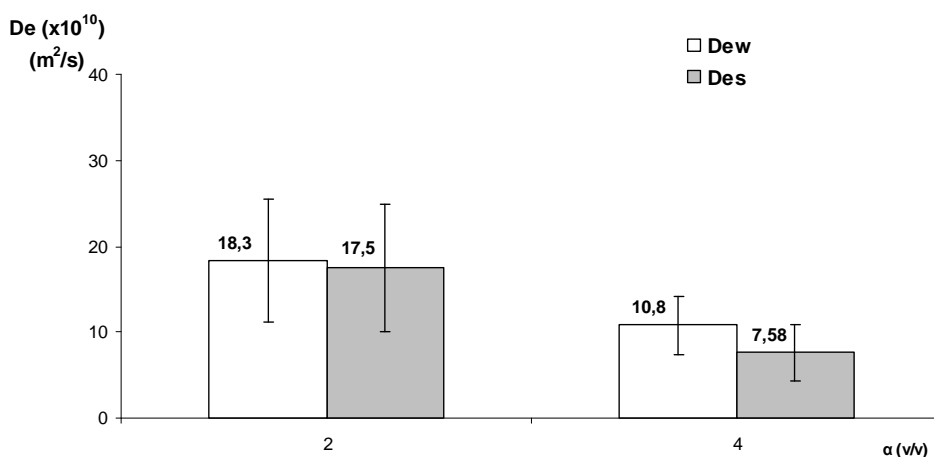


Figura27 – Coeficientes de difusão em função de α

Parte III. Resultados e Discussão

É importante referir a possível razão para o erro elevado dos coeficientes de difusão para $\alpha=2$. Pode dever-se ao facto de o primeiro ponto experimental ocorrer apenas para 30 minutos enquanto para $\alpha=4$, foi de 20 minutos. Os resultados obtidos sob pressão suportam esta possibilidade.

Apesar dos coeficientes de difusão para o menor valor de α serem maiores, verificou-se, em termos absolutos que houve uma menor quantidade de água e NaCl difundidas. No equilíbrio, observou-se que a água se difundiu mais 28% (m/m) para $\alpha=4$ comparando com $\alpha=2$. Para o caso do NaCl, este difundiu-se mais 55% (m/m) no equilíbrio. Isto seria expectável, já que como a difusão é regulada pela diferença de concentrações, quando existe uma diferença de concentração maior, isto favorecerá um equilíbrio osmótico diferente. Relativamente à entrada de água, também seria expectável que um maior volume de água de demolha, isto é maior α , favorecesse a difusão desta, levando a um estado de equilíbrio osmótico diferente.

3.3. *Estudo da demolha de bacalhau sob pressão*

Depois de analisar o efeito da temperatura e α na cinética de demolha de bacalhau, estudou-se então o efeito da alta pressão hidrostática na mesma.

3.3.1. **Efeito da alta pressão de 50 a 300 MPa e $\alpha=2$**

Em termos de condições experimentais, a demolha foi feita a 20,0°C, pois não se tendo verificado efeitos muito pronunciados da temperatura à pressão atmosférica, esta temperatura era a de mais fácil aplicação a nível industrial, por ser próxima da temperatura ambiente. Utilizou-se uma relação $\alpha=2$, pois esta razão devido à limitação do tamanho do vaso de pressão e o número de réplicas a usar, seria em termos experimentais mais fácil de aplicar. As pressões aplicadas foram 50, 100, 200 e 300 MPa, durante 30 segundos a 12 minutos.

3.3.1.1. 50 MPa

Na Tabela 16 apresentam-se os valores da água e NaCl difundidos sob pressão até 12 minutos de pressurização, a 50 MPa (Figura 28 e Figura 29). Como se pode verificar o equilíbrio osmótico foi atingido muito rapidamente (em poucos minutos).

Tabela 16 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 50 MPa

Tempo (min)	Sr	Mr
0	1,000	1,0000
0,5	0,622 (0,019)	0,7795 (0,0001)
1	0,336 (0,046)	0,4183 (0,1610)
2	0,392 (0,019)	0,6243 (0,3012)
3	0,043 (0,067)	0,4691 (0,0850)
5	0,085 (0,157)	-0,1002 (0,0366)
8	-0,130 (0,001)	0,2540 (0,2431)
12	0,059 (0,096)	-0,3398 (0,0900)

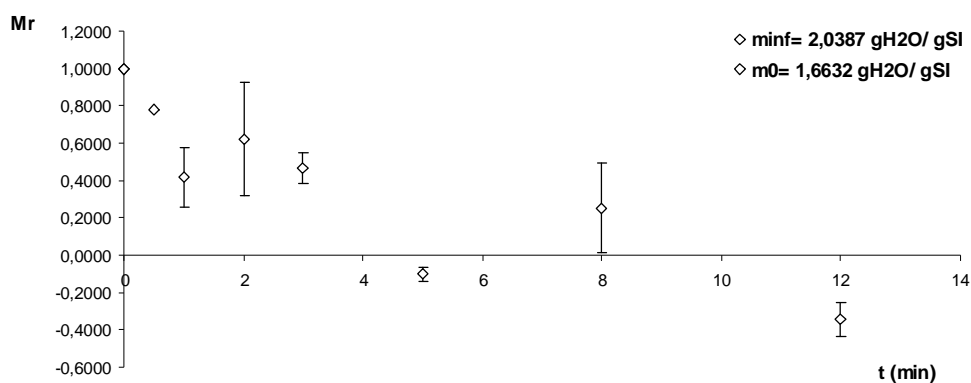


Figura 28 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha, a 50 MPa

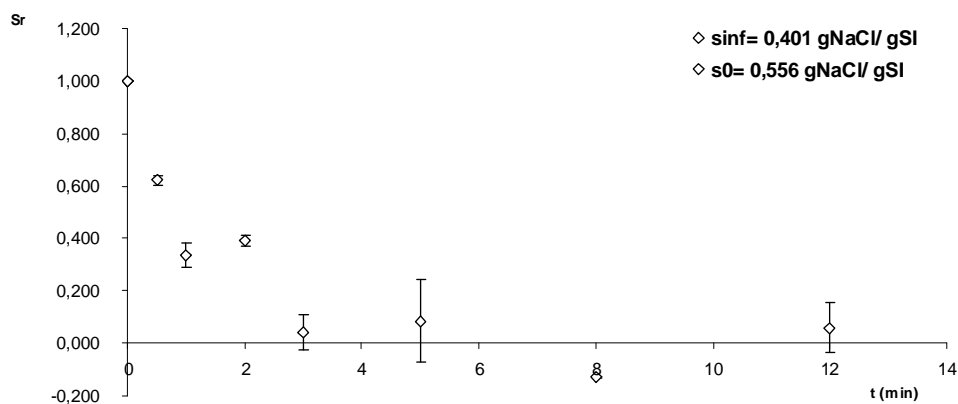


Figura 29 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha, a 50 MPa

Parte III. Resultados e Discussão

3.3.1.2. 100 MPa

Seguidamente, realizou-se a demolha de bacalhau assistida por alta pressão a 100 MPa. Também a 100 MPa, o equilíbrio de NaCl e H₂O se estabeleceu mais rapidamente sob pressão (Tabela 17 e Figura 30 e Figura 31).

Tabela 17 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 100 MPa

Tempo (min)	Sr	Mr
0	1,000	1,0000
0,5	0,639 (0,067)	0,1260 (0,0435)
1	0,147 (0,029)	0,1249 (0,0591)
2	0,046 (0,001)	-0,0736 (0,0663)
3	0,102 (0,098)	0,1350 (0,1316)
5	0,173 (0, 156)	-0,0144 (0,1829)
8	0,133 (0,125)	-0,0047 (0,1672)
12	-0,134 (0,010)	-0,1372 (0,0863)

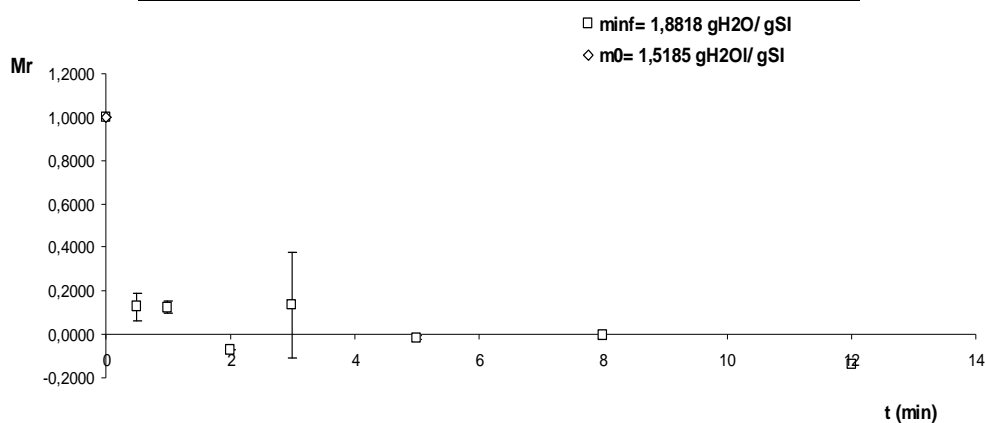


Figura 30 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha, a 100 MPa

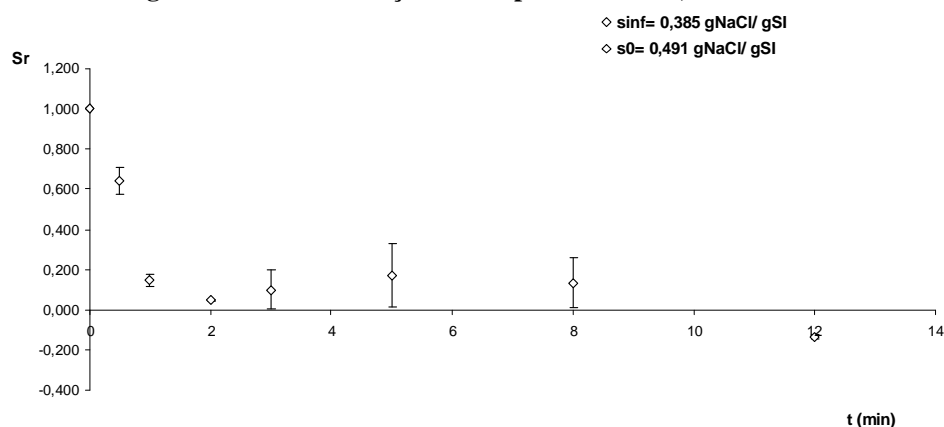


Figura 31 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha, a 100 MPa

3.3.1.3. 200 MPa

Os valores obtidos para a demolha a 200 MPa são apresentados na Tabela 18 e Figura 32 e Figura 33, podendo ver-se que o equilíbrio também é atingido muito rapidamente.

Tabela 18 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 200 MPa

Tempo (min)	Sr	Mr
0	1,000	1,0000
0,5	0,284 (0,037)	0,0331 (0,0175)
1	0,373 (0,011)	-0,0386 (0,1784)
2	-0,102 (0,006)	0,2293 (0,1699)
3	0,038 (0,043)	0,0589 (0,0272)
5	0,017 (0,029)	0,3176 (0,0304)
8	0,018 (0,072)	-0,3387 (0,0169)
12	-0,111 (0,055)	-0,2653 (0,0036)

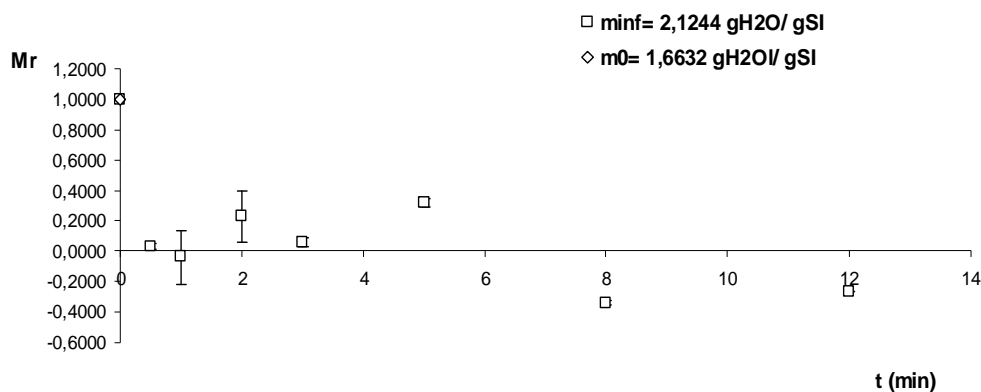


Figura 32 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha, a 200 MPa

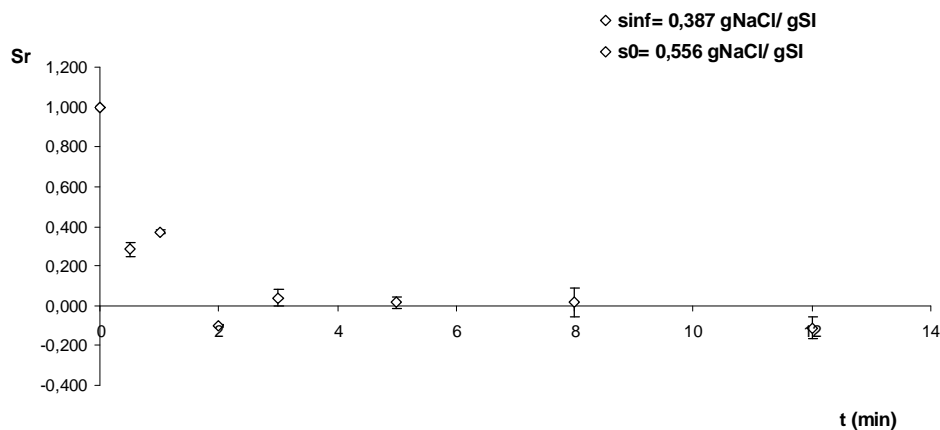


Figura 33 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha, a 200 MPa

3.3.1.4. 300 MPa

Os resultados obtidos para a demolha a 300MPa são apresentados na Tabela 19 e Figura 34 e Figura 35, verificando-se mais uma vez que o equilíbrio osmótico é atingido muito rapidamente.

Tabela 19 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 300 MPa

Tempo (min)	Sr	Mr
0	1,000	1,0000
0,5	0,503 (0,047)	---
1	0,260 (0,108)	0,2406 (0,1915)
2	0,249 (0,103)	0,1384 (0,0324)
3	-0,120 (0,067)	0,2046 (0,1304)
5	0,008 (0,027)	-0,0427 (0,2601)
8	0,152 (0,016)	-0,0661 (0,3026)
12	-0,127 (0,112)	-0,0161 (0,2403)

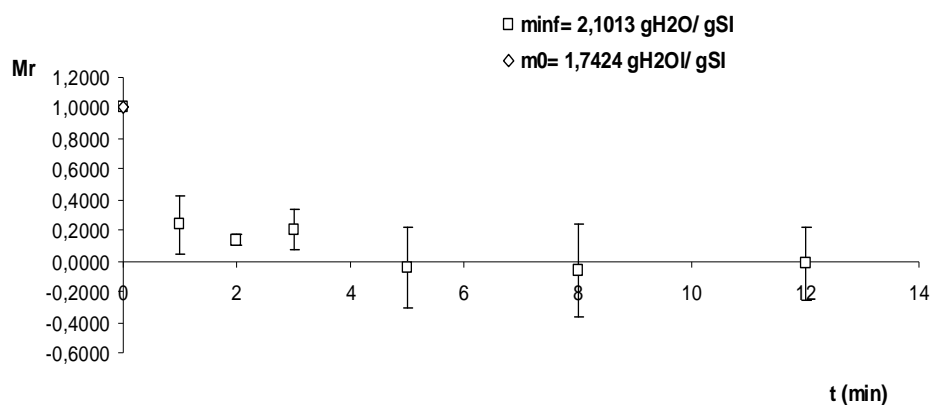


Figura 34 – Rácio de água difundida em função do tempo de demolha, a 300 MPa

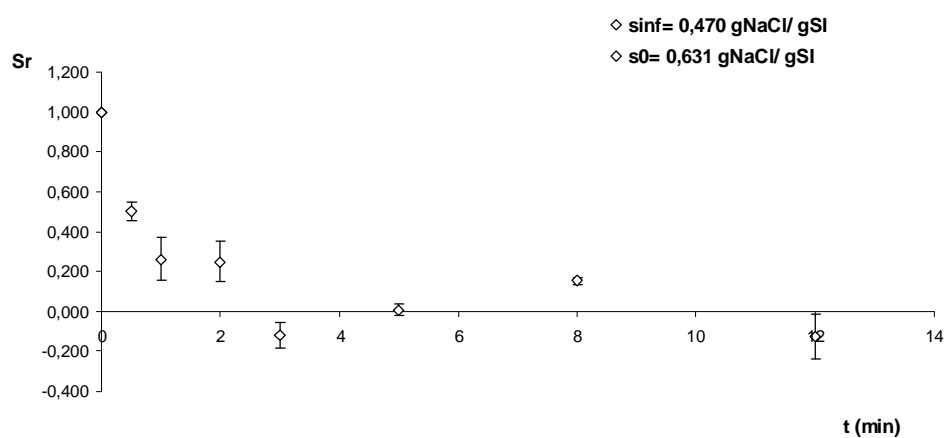


Figura 35 – Rácio de NaCl difundido em função do tempo de demolha, a 300 MPa

3.3.1.5. Comparação da demolha a 50, 100, 200 e 300 MPa com a pressão atmosférica

Para se poder comparar melhor o efeito da alta pressão hidrostática no processo de demolha de bacalhau, os valores do rácio de água difundida e NaCl difundido durante o processo à pressão atmosférica e sob alta pressão são apresentados nos gráficos seguintes.

Dada a diferença de escala temporal em que a demolha atinge o equilíbrio à pressão atmosférica e sob pressão, no gráfico principal apenas são apresentados os resultados à pressão atmosférica até 30 minutos (o gráfico mais pequeno apresenta toda a escala).

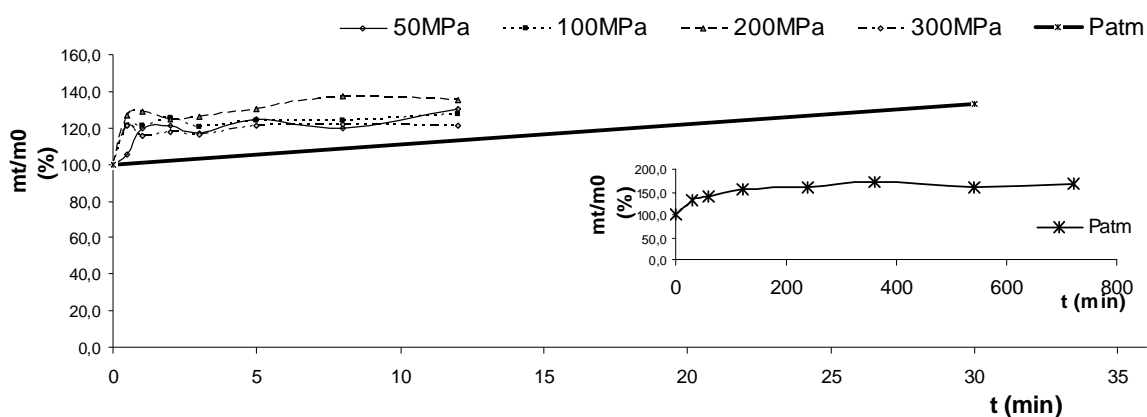


Figura 36 – Conteúdo de água relativo de 0,1 a 300 MPa em função do tempo de demolha (o gráfico mais pequeno apresenta a gama toda de tempo que decorre a demolha à pressão atmosférica)

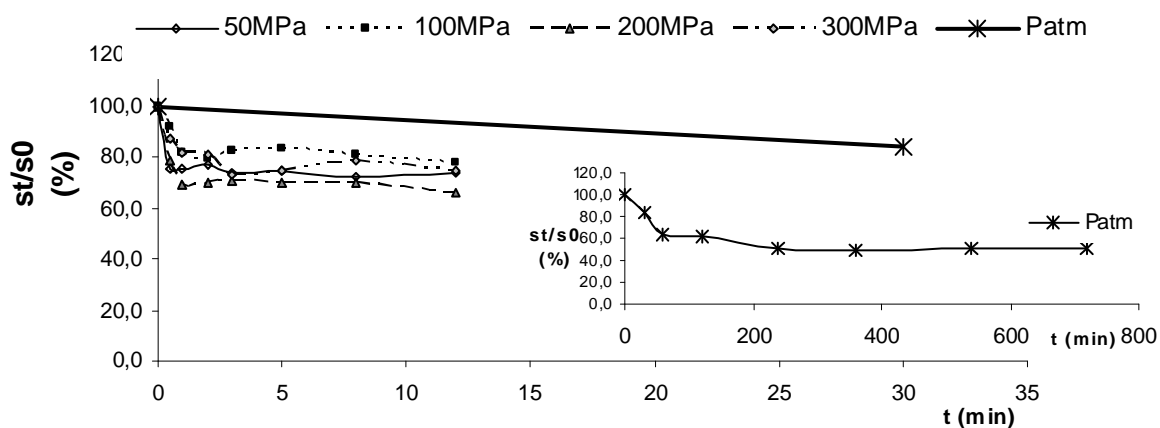


Figura 37 – Conteúdo de NaCl relativo de 0,1 a 300 MPa em função do tempo de demolha (o gráfico mais pequeno apresenta a gama toda de tempo que decorre a demolha à pressão atmosférica)

Parte III. Resultados e Discussão

Como se verifica nas Figura 36 e Figura 37, a velocidade a que se atinge o equilíbrio para qualquer pressão é muito mais rápida, porém a quantidade de sal e água difundidos é menor. Mesmo assim, em apenas 1-3 minutos a perda de sal e ganho de água é equivalente a cerca de 1 hora à pressão atmosférica.

A Tabela 20 apresenta os valores para o coeficiente de difusão do sal e água em todos os casos estudados. Como se pode observar, estes são muito superiores sob pressão.

Tabela 20 – Valores dos coeficientes de difusividade efectivos sob pressão e relação destes face ao valor à pressão atmosférica

Pressão (MPa)	$D_{ew} \times 10^8$ (m ² /s)	R ²	$D_{ew} P / D_{ew atm}$	$D_{es} \times 10^8$ (m ² /s)	R ²	$D_{es} P / D_{es atm}$
0,1	0,183±0,072	0,998	1,00	0,175±0,074	0,995	1,00
50	9,56±15,2	0,995	52,2	8,51±5,61	0,998	48,6
100	44,7±27,1	0,999	244	17,5±14,1	0,997	100
200	90,9±36,6	0,998	497	28,8±16,8	0,998	165
300	12,9±11,9	0,999	70,5	13,4±8,38	0,998	76,6

Importa referir que os erros dos valores dos coeficientes de difusão obtidos pelo modelo não linear são elevados, para o caso da demolha sob pressão. Isto deve-se ao facto de haver uma limitação experimental na amostragem, já que se torna muito difícil fazer tempos sob pressão menores que 30 segundos. Uma vez que a difusão, quer para a água, quer para o sal é muito rápida, torna-se difícil obter pontos experimentais no início do processo de demolha. Estes erros apesar de elevados não podem ser comparados com os valores apresentados na literatura, visto que na literatura os coeficientes de difusão são apresentados sem erros associados^{28, 51, 57}.

Na Figura 38, pode-se observar que os coeficientes de difusão tanto para o NaCl como para a água apresentam uma variação linear com a pressão até 200 MPa. Este facto é interessante, já que é possível prever nesta gama qual será o valor do coeficiente de difusão a uma dada pressão (na gama de 0,1 a 200 MPa), mediante as rectas. A 300 MPa verifica-se uma diminuição do valor de difusividade, embora relativamente à pressão atmosférica ainda seja 70x maior para a água e 76x para o NaCl, como se pode verificar no Figura 38.

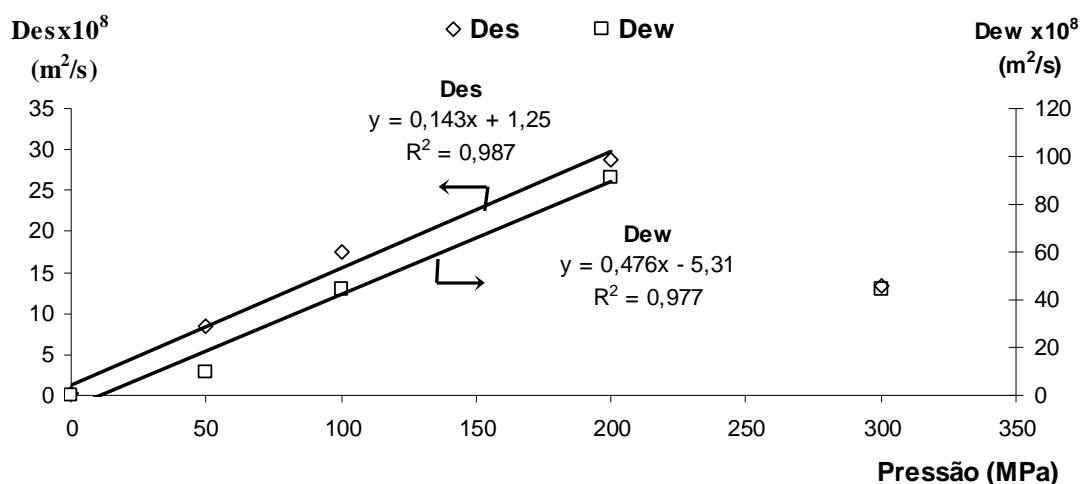


Figura 38 – Difusividades relativas sob pressão e à pressão atmosférica em função das pressões aplicadas

Para o melhor caso em termos de efeito da pressão no coeficiente de difusão, isto é, a 200MPa, conclui-se que para a água o aumento é de quase 500x superior à pressão atmosférica e para o sal 165x superior. Como se verifica na Figura 38, o efeito da alta pressão na difusão da água é maior que na difusão do NaCl, dados os declives obtidos, respectivamente, 0,476 e 0,143.

Dado que os coeficientes de difusão sob alta pressão são muito elevados, o equilíbrio osmótico do processo de transferência de massa atinge-se muito rapidamente. No entanto, ele é menos extenso, como se verifica na tabela seguinte. Ou seja, a quantidade de sal que sai e de água que entra no bacalhau é menor quando comparado com a pressão atmosférica.

Tabela 21 – Valores do conteúdo de água e NaCl transferidos a diferentes pressões

Pressão (MPa)	$(\min f - m_0)/(\min f - m_0)_{atm}$ (%)	$\min f$ (gH ₂ O/ gSI)	$(s_0 - \sin f)_p/(s_0 - \sin f)_{atm}$ (%)	$\sin f$ (gNaCl/ gSI)
0,1	100,0	2,4759	100,0	0,245
50	38,3	2,0387	66,0	0,401
100	37,1	1,8818	45,1	0,385
200	47,1	2,1244	71,9	0,387
300	36,6	2,1013	68,5	0,470

Como se verifica na tabela acima, apesar da difusividade ser muito superior, apenas foi transferida 37 a 47% da água (consoante a pressão aplicada) quando comparado com a água difundida à pressão atmosférica, e 45-72% do NaCl difundido. Porém há que ter em

Parte III. Resultados e Discussão

conta que sob pressão o tempo máximo de demolha foi de apenas 12 minutos para se atingir o equilíbrio osmótico, e durante a demolha à pressão atmosférica demorou sensivelmente 4 a 6 horas, para $\alpha=2$.

Interessa assim, otimizar o processo sobre pressão de modo a que se mantenham os coeficientes de difusão muito elevados mas se difunda mais NaCl e mais H₂O. Com este intuito, estudou-se o efeito do factor α . A temperatura também foi estudada com o intuito de averiguar se o efeito deste factor é igual sob pressão e à pressão atmosférica já que muitos fenómenos têm comportamentos diferentes sob pressão, quando comparados com a pressão atmosférica.

Industrialmente, aplicar-se pressões muito elevadas, torna os processos menos rentáveis economicamente, então, como as melhores pressões neste trabalho experimental foram por ordem crescente, 50/300, 100, 200 MPa, isto em termos de coeficientes de difusão e conteúdo difundido de H₂O e NaCl, escolheu-se a pressão de 100 MPa para as experiências seguintes.

3.3.2. Efeito do factor α sob alta pressão

Para estudar o efeito do factor α sob pressão, realizou-se a operação de demolha a 100 MPa, usando a temperatura de 20,0°C e o valor de α de 4 e comparou-se com os valores de $\alpha=2$ nas mesmas condições. Os resultados são apresentados na Tabela 22 e nas Figura 39 e Figura 40. Como se pode ver o equilíbrio atinge-se muito rapidamente, assim como se tinha verificado para $\alpha=2$.

Tabela 22 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 100 MPa, $\alpha=4$

t (min)	Sr	Mr
0	1,000	1,0000
1	0,340 (0,011)	0,2292 (0,0005)
2	0,309 (0,066)	0,3400 (0,0008)
3	0,051 (0,117)	0,3120 (0,0015)
6	0,218 (0,082)	-0,2756 (0,0007)
9	0,198 (0,078)	0,1630 (0,0004)
12	-0,089 (0,050)	0,0842 (0,0002)
15	-0,230 (0,018)	-0,0811 (0,0002)

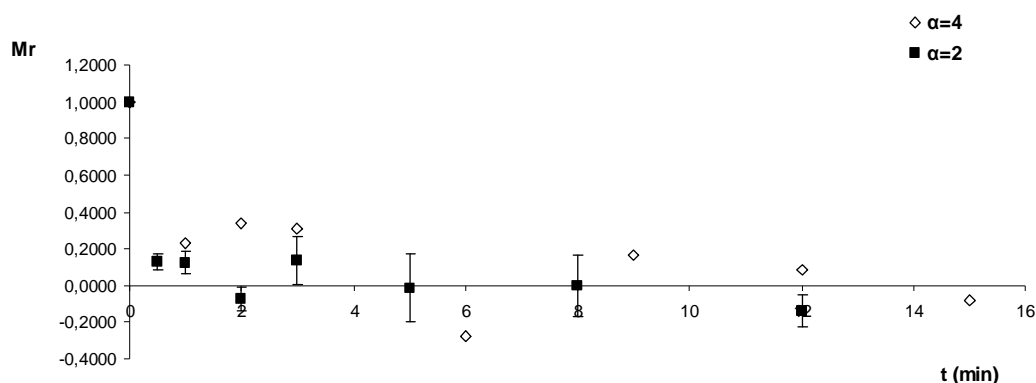


Figura 39 – Rácio de água difundida a 100 MPa, para $\alpha=4$ e $\alpha=2$, em função do tempo de demolha

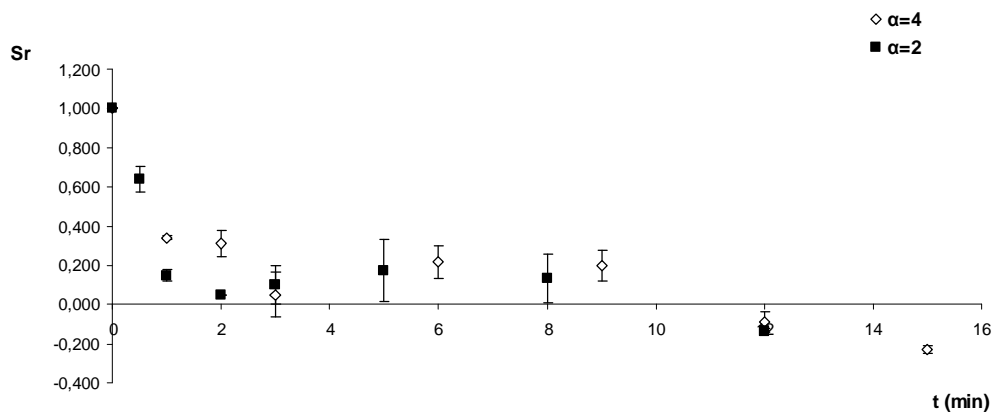


Figura 40 – Rácio de NaCl a 100 MPa, para $\alpha=4$ e $\alpha=2$, em função do tempo de demolha

As Tabela 23 e 24 apresentam os valores dos coeficientes de difusão para $\alpha=2$ e para $\alpha=4$. As Tabelas 23 e 24 também apresentam os valores de água e sal difundidos para $\alpha=2, 4, 6, 8$. Para $\alpha=2$ e 4 os valores do conteúdo difundido foram comparados em termos percentuais com os valores da água(sal) difundida(o) à pressão atmosférica nas mesmas condições (20,0°C, $\alpha=2$ e $\alpha=4$). Não se determinou para $\alpha=6$ e 8 os coeficientes de difusão devido ao tempo limitado para realizar este trabalho experimental, tendo-se apenas feito o tempo de 15 minutos e assumido que já se tinha atingido o equilíbrio. O intuito desta experiência era ver se com o aumento de α , se conseguia atingir um estado de equilíbrio com mais quantidade de sal e água difundidos.

Parte III. Resultados e Discussão

Tabela 23 – Valores dos coeficientes de difusão da água a 100 MPa para $\alpha=2$ e $\alpha=4$ e conteúdo de água e sal difundido no equilíbrio para $\alpha=2, 4, 6$ e 8

α	$D_{ew} \times 10^8$ (m ² /s)	R ²	m0 (gH ₂ O/ gSI)	minf (gH ₂ O/ gSI)	minf-m0 (gH ₂ O/ gSI)	(minf-m0) _p /(minf -m0) _{atm} (%)
2	44,7±27,1	0,999	1,5185	1,8818±0,0334	0,3633	37,1
4	11,3±10,3	0,999	1,8317	2,2974±0,0704	0,4657	37,1
6	----	----	1,8317	2,3430	0,5113	----
8	----	----	1,8317	2,3460	0,5143	----

Tabela 24 – Valores dos coeficientes de difusão do NaCl a 100 MPa para $\alpha=2$ e $\alpha=4$ e conteúdo de sal difundido no equilíbrio para $\alpha=2, 4, 6$ e 8

α	$D_{es} \times 10^8$ (m ² /s)	R ²	s0 (gNaCl/ gSI)	sinf (gNaCl/ gSI)	s0-sinf (gNaCl/ gSI)	(s0-sinf) _p /(s0-sinf) _{atm} (%)
2	17,5±14,1	0,997	0,491	0,385±0,021	0,106	45,1
4	7,23±6,74	0,995	0,592	0,411±0,031	0,181	47,7
6	----	----	0,592	0,386	0,206	----
8	----	----	0,592	0,385	0,207	----

Os valores dos coeficientes de difusão para $\alpha=4$ foram inferiores aos valores para $\alpha=2$. Para a água foi aproximadamente 4x menor e para o NaCl foi aproximadamente 2,5x menor. Porém, apesar destes terem sido menores, observou-se que o conteúdo de NaCl e de água difundido foi superior 1,7x e 1,3x, respectivamente. O que seria expectável já que o equilíbrio osmótico é atingido quando as pressões osmóticas se igualam entre o meio exterior e o interior, logo aumentando o volume da água de demolha, o equilíbrio será mais extenso em termos de saída de sal. O mesmo se aplica para a entrada de água. O conteúdo difundido não se comporta linearmente com o aumento do factor α , relevando uma tendência para estabilizar com relações volume de água/volume de amostra elevadas. No entanto convém realçar que os valores de α estudados são relativamente pequenos e os resultados para valores maiores ($\alpha \gg 10$) podem ser diferentes.

Comparando os conteúdos de água e sal difundidos sob pressão com os conteúdos difundidos à pressão atmosférica nas mesmas condições ($\alpha=2$ e 4), concluiu-se que os valores são sensivelmente os mesmos, em termos percentuais, o que seria expectável. Os resultados obtidos, permitem concluir que aumentando o α se obtêm valores dos coeficientes de difusão elevados (da mesma ordem de grandeza), enquanto que o conteúdo difundido de água e sal aumentam.

3.3.3. Efeito da temperatura sob pressão a 100MPa

A fim de analisar se o efeito da temperatura é igual sob pressão (100 MPa) ou à pressão atmosférica, estudou-se a demolha a 12,5°C, com $\alpha = 4$ e comparou-se com o caso de estudo anterior, isto é, a 20,0°C. Os valores são apresentados na Tabela 25 e Figura 41 e 42.

Tabela 25 – Valores do rácio de água e NaCl difundidos, a 12,5°C, a 100 MPa, $\alpha=4$

t (min)	Sr	Mr
0	1,000	1,0000
1	0,233 (0,019)	0,3645 (0,0317)
2	0,111 (0,047)	0,4867 (0,0237)
3	-0,028 (0,040)	0,1555 (0,0221)
6	-0,047 (0,130)	-0,2344 (0,0703)
9	0,021 (0,014)	-0,0079 (0,0144)
12	0,016 (0,018)	0,1613 (0,0339)
15	-0,016 (0,018)	-0,1613 (0,0339)

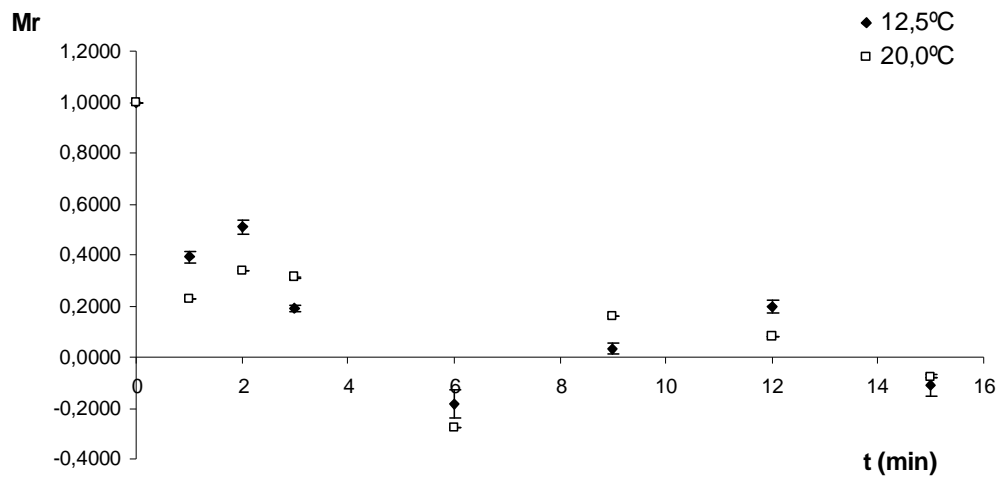


Figura 41 – Rácio de água difundida a 100 MPa, em função do tempo de demolha a diferentes temperaturas

Parte III. Resultados e Discussão

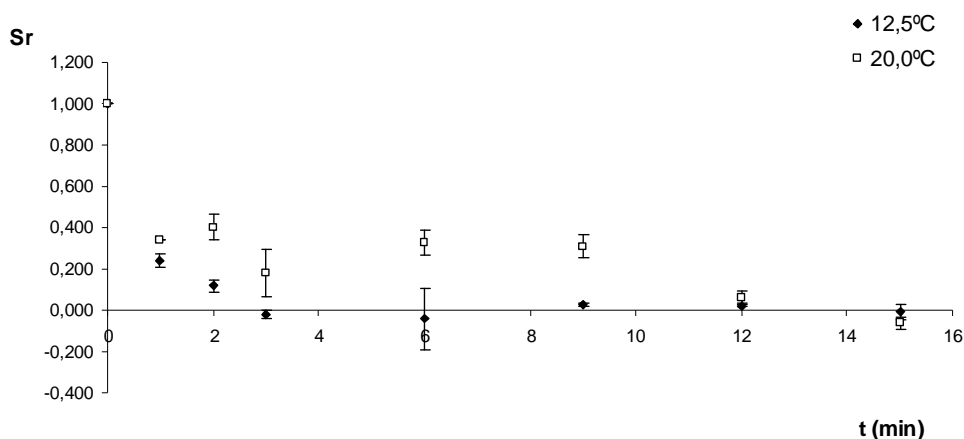


Figura 42 – Rácio de NaCl difundido a 100 MPa, em função do tempo de demolha a diferentes temperaturas

Analisando a água e sal difundidos, mediante os gráficos acima, observa-se que o comportamento da difusão às duas temperaturas é muito semelhante. As Tabelas 26 e 27 apresentam os valores dos coeficientes de difusão.

Tabela 26 – Valores do coeficiente de difusão da água a 100 MPa e conteúdo de água difundido a 12,5 e a 20,0 °C

Temperatura (°C)	100 MPa					Patm
	$D_{ew} \times 10^8$ (m ² /s)	R ²	m0 (gH ₂ O/ gSI)	minf (gH ₂ O/ gSI)	$\frac{(minf-m0)_p}{(minf-m0)_{atm}}$ (%)	$D_{ew} \times 10^8$ (m ² /s)
12,5	6,60±5,00 88,2*	0,999	1,8309	2,2579±0,0765	31,7	0,0748±0,0335
20,0	11,3±10,3 109,7*	0,999	1,8317	2,2974±0,0704	37,1	0,108±0,0345

* $D_{ew}P/D_{ew}Atm$

Tabela 27 – Valores do coeficiente de difusão do NaCl a 100 MPa e conteúdo de água difundido a 12,5 e a 20,0 °C

Temperatura (°C)	100 MPa					Patm
	$D_{es} \times 10^8$ (m ² /s)	R ²	s0 (gNaCl/ gSI)	sinf (gNaCl/ gSI)	$\frac{(s0-sinf)_p}{(s0-sinf)_{atm}}$ (%)	$D_{es} \times 10^8$ (m ² /s)
12,5	11,0±6,65 50,0*	0,999	0,503	0,391±0,012	23,2	0,220±0,0800
20,0	7,23±6,74 95,4*	0,995	0,592	0,411±0,031	47,7	0,0758±0,0332

* $D_{es}P/D_{es}Atm$

Parte III. Resultados e Discussão

A 100 MPa observa-se que o coeficiente de difusão para o sal é menor e para a água maior a 20,0 °C, comparativamente a 12,5 °C. Contudo, dados os erros associados as diferenças não podem ser consideradas estatisticamente significativas.

Comparando o rácio dos coeficientes de difusão às duas temperaturas sob pressão e à pressão atmosférica, que varia entre 50 e 95, conclui-se que a 12,5°C e 20,0°C a aplicação de pressão tem sensivelmente o mesmo efeito na cinética da demolha, às duas temperaturas.

Também se avaliou para estes casos se se verificava alterações na actividade da água ao longo do tempo de demolha (Tabela 28 e Figura 43).

Tabela 28 – Valores de actividade da água a 12,5 e 20,0°C a 100 MPa, em função do tempo de demolha

Tempo (min)	aw 12,5°C	aw 20,0°C
0	0,678	0,678
1	0,678	0,730
2	0,754	0,780
3	0,791	0,802
6	0,828	0,749
9	0,781	0,809
12	0,798	0,782
15	0,824	0,795

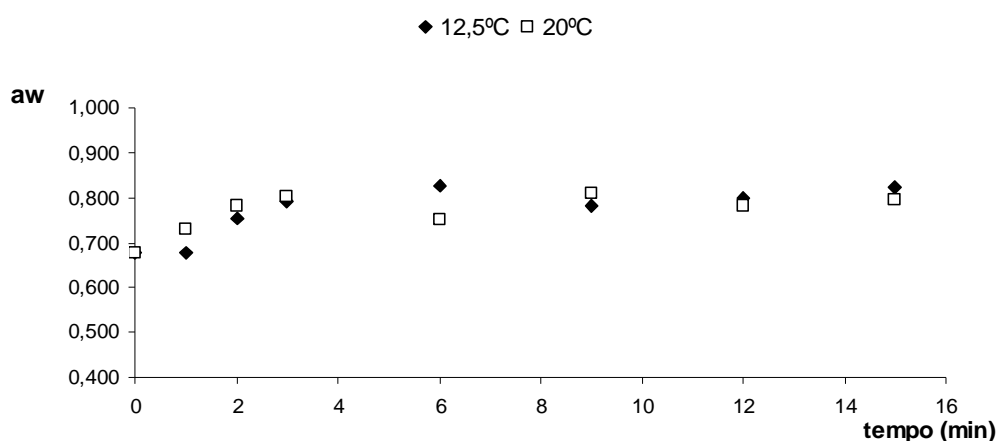


Figura 43 – Actividade da água em função do tempo de demolha, a 100 MPa

Como se pode observar no gráfico, não há diferenças acentuadas entre a actividade da água a 12,5 e a 20,0°C. Conclui-se que o efeito da temperatura não altera a actividade da água do bacalhau demolhado. Comparando a gama de valores da actividade da água sob

Parte III. Resultados e Discussão

pressão com a gama de valores da actividade da água à pressão atmosférica, verifica-se esta gama é muito similar.

3.3.4. Efeito do α a 12,5 e 20,0°C sob alta pressão

Analizou-se também se o efeito do parâmetro α sob pressão que foi analisado anteriormente no ponto 3.3.2., diferia consoante a temperatura utilizada, tendo sido estudado se o conteúdo de NaCl e H₂O difundidos a 100 MPa foi diferente a 12,5 e 20,0 °C.

Tabela 29 – Valores relativos do conteúdo de água e sal difundido a 12,5 e 20,0°C, a 100 MPa

α	12,5°C		20,0°C	
	minf-m0 gH ₂ O/ gSI	sinf-s0 gNaCl/ gSI	minf-m0 gH ₂ O/ gSI	sinf-s0 gNaCl/gSI
2	-----	-----	0,3633	0,106
4	0,4279	0,112	0,4657	0,181
6	0,4518	0,120	0,5113	0,206
8	0,4871	0,123	0,5143	0,207

Como se verifica na tabela acima, os valores tanto para o NaCl como para a água difundidos, foram superiores para todos os casos aquando o aumento de temperatura. Esta situação também se observou à pressão atmosférica mas não de modo tão acentuado.

Assim, conclui-se que o aumento da temperatura, assim como o aumento de α , levam a demolhas mais rápidas e com maior conteúdo de água e NaCl difundidos.

3.4. *Equilíbrio sob pressão versus equilíbrio à pressão atmosférica*

Nas experiências sob pressão, uma diferença fundamental, relativamente à demolha à pressão atmosférica, foi o facto de o estado de equilíbrio ser atingido com uma quantidade de sal maior e de água menor no bacalhau. Uma hipótese que pode explicar esta situação, é a compressão da água de demolha que ocorre sob pressão. Este facto leva à concentração da água de demolha e aumento da sua pressão osmótica, pelo que o equilíbrio se atingirá com um conteúdo em sal maior e de água menor no bacalhau.

Parte III. Resultados e Discussão

Para testar esta hipótese, pressurizaram-se as amostras a 100 MPa durante 12 minutos com $\alpha=4$, e de seguida, deixou-se a demolhar à pressão atmosférica (com a mesma água de demolha) durante mais 6 horas. Estas análises foram realizadas a 20,0 °C e a 12,5 °C de modo a analisar algum efeito da temperatura (Tabela 30 e Figura 44-Figura 47).

Tabela 30 – Valores do conteúdo de NaCl e água a 100 MPa a diferentes tempos de demolha, a 20,0 °C e 12,5 °C

Tempo (min)	12,5 °C		20,0 °C	
	mt gH ₂ O/ g SI	st gNaCl/ g SI	mt gH ₂ O/ g SI	st gNaCl/ g SI
12 _{100MPa}	2,3143	0,387 (0,001)	2,2581	0,395 (0,009)
12 _{100MPa} + 360 _{Patm}	2,8819	0,166 (0,009)	2,8824	0,132 (0,001)

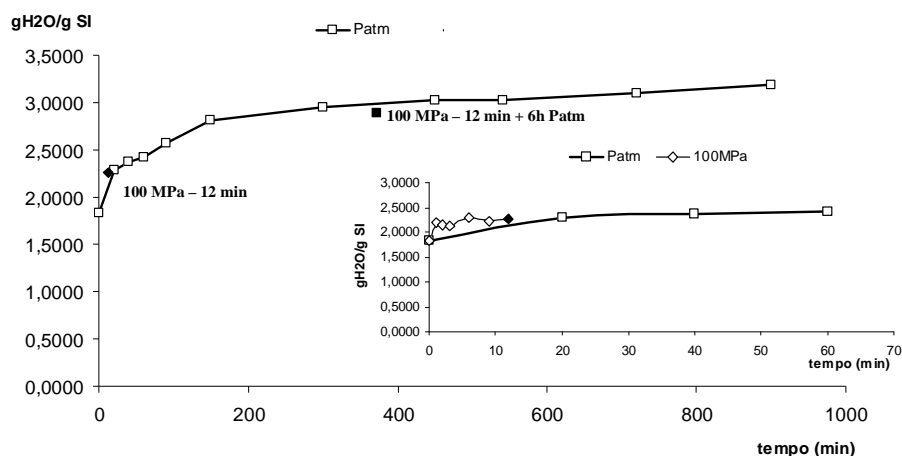


Figura 44 – Conteúdo de água em função do tempo de demolha, com combinação de pressão a 20,0 °C (gráfico pequeno apresenta 60 minutos de demolha à pressão atmosférica e 30’’ a 12’ sob pressão, para melhor visualização)

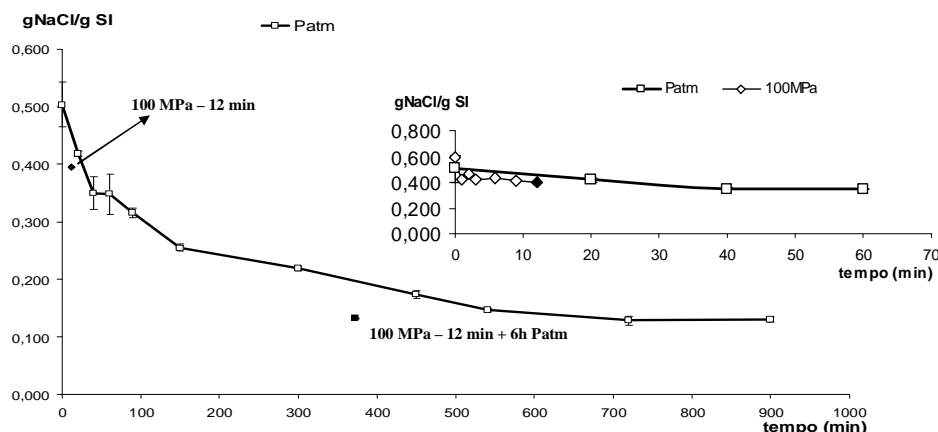


Figura 45 – Conteúdo de NaCl em função do tempo de demolha, com combinação de pressão a 20,0 °C (gráfico pequeno apresenta 60 minutos de demolha à pressão atmosférica e 30’’ a 12’ sob pressão, para melhor visualização)

Parte III. Resultados e Discussão

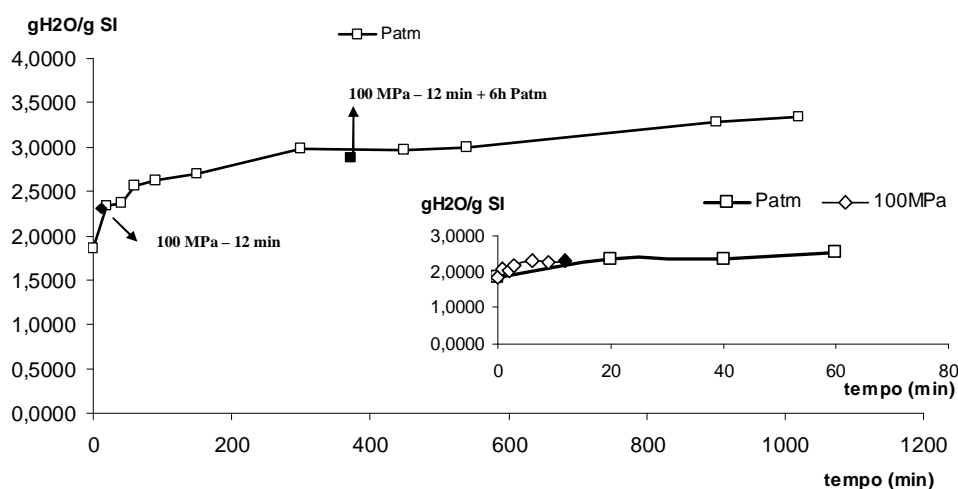


Figura 46 – Conteúdo de água em função do tempo de demolha, com combinação de pressão a 12,5 °C (gráfico pequeno apresenta 60 minutos de demolha à pressão atmosférica e 30’’ a 12’ sob pressão, para melhor visualização)

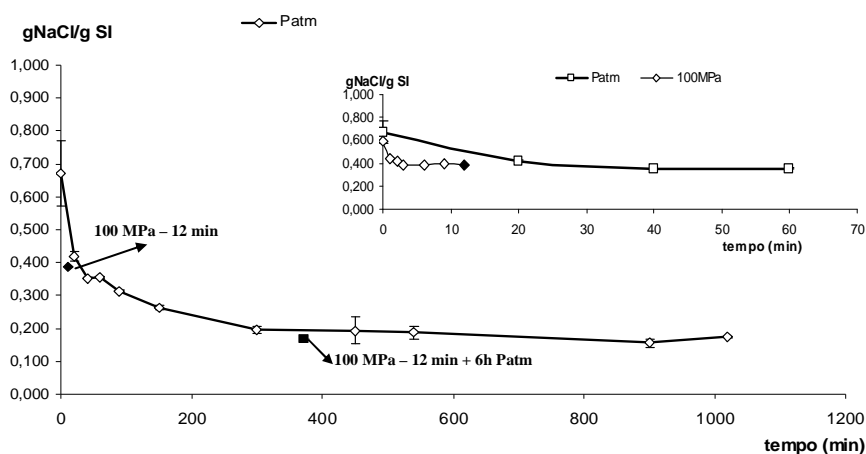


Figura 47 – Conteúdo de NaCl em função do tempo de demolha, com combinação de pressão a 12,5 °C (gráfico pequeno apresenta 60 minutos de demolha à pressão atmosférica e 30’’ a 12’ sob pressão, para melhor visualização)

Analisando as Figura 44 a Figura 47 e a Tabela 30, pode-se concluir, que o processo de transferência de massa não estagna depois de ser aplicada a pressão, isto é, verificou-se que, os conteúdos de NaCl continuam a decrescer após os 12’ de pressurização e os conteúdos de H₂O continuam a aumentar, quando se deixa a demolhar à pressão atmosférica.

Os valores de NaCl e H₂O são sensivelmente os mesmos quando comparados com os valores à pressão atmosférica, durante o mesmo tempo de demolha. Pode-se concluir então que ao submeter as amostras sob pressão atinge-se um equilíbrio osmótico, mas

reduzindo a pressão, isto é, continuando a demolha à pressão atmosférica, atinge-se um novo equilíbrio. Esta situação deve ser devida ao facto de sob pressão a água ser comprimida e portanto a solução da água de demolha concentrada, o que aumenta a pressão osmótica. Deste modo, o equilíbrio que se atinge corresponde a uma maior pressão osmótica do bacalhau e portanto de maior conteúdo em sal. Após a descompressão e mantendo a amostra à pressão atmosférica atinge-se novamente o equilíbrio à pressão atmosférica.

Como já foi referido, o equilíbrio sob pressão atinge-se muito mais rapidamente. Este equilíbrio, em termos de conteúdo de NaCl e água, equivale a aproximadamente 1 hora de demolha à pressão atmosférica.

3.5. *Comparação entre coeficientes de difusão obtidos pelo modelo não-linear e pelo modelo linear*

Como os valores dos coeficientes de difusão obtidos pelo modelo não-linear continham erros elevados associados, especialmente para os casos sob pressão, comparou-se estes valores com os valores obtidos pelo modelo linear. A escassez de pontos experimentais na zona em que decrescia/aumentava muito os valores de sal/água foi a principal razão para os erros encontrados. Os valores são apresentados nas Tabelas 31 e 32.

Tabela 31 – Comparação dos valores dos coeficientes de difusão para a água obtidos pelo modelo não-linear e linear

P (MPa)	T (°C)	α	D _{ew} Não Linear (m ² /s)	D _{ew} Linear (m ² /s)	Diferença (%)
0,1	4,0	4	6,92x10 ⁻¹⁰	6,90 x10 ⁻¹⁰	0,32
0,1	12,5	4	7,48 x10 ⁻¹⁰	7,78 x10 ⁻¹⁰	-4,00
0,1	20,0	4	1,08 x10 ⁻⁰⁹	1,04 x10 ⁻⁰⁹	3,54
0,1	20,0	2	1,83 x10 ⁻⁰⁹	2,01 x10 ⁻⁰⁹	-9,78
50	20,0	2	9,56 x10 ⁻⁰⁸	1,20 x10 ⁻⁰⁷	-25,97
100	20,0	2	4,47 x10 ⁻⁰⁷	2,87 x10 ⁻⁰⁷	35,71
200	20,0	2	9,09 x10 ⁻⁰⁷	9,42 x10 ⁻⁰⁷	-3,60
300	20,0	2	1,29 x10 ⁻⁰⁷	1,47 x10 ⁻⁰⁷	-13,82
100	20,0	4	1,13 x10 ⁻⁰⁷	8,69 x10 ⁻⁰⁸	23,05
100	12,5	4	6,60 x10 ⁻⁰⁸	6,97 x10 ⁻⁰⁸	-5,58

Parte III. Resultados e Discussão

Tabela 32 – Comparação dos valores dos coeficientes de difusão para o sal obtidos pelo modelo não-linear e linear

P (MPa)	T (°C)	α	D_{es} Não Linear (m²/s)	D_{es} Linear (m²/s)	Diferença (%)
0,1	4,0	4	$1,26 \times 10^{-09}$	$1,35 \times 10^{-09}$	-7,15
0,1	12,5	4	$2,20 \times 10^{-09}$	$1,88 \times 10^{-09}$	14,68
0,1	20,0	4	$7,58 \times 10^{-10}$	$6,69 \times 10^{-10}$	11,68
0,1	20,0	2	$1,75 \times 10^{-09}$	$1,82 \times 10^{-09}$	-4,22
50	20,0	2	$8,51 \times 10^{-08}$	$7,55 \times 10^{-08}$	11,24
100	20,0	2	$1,75 \times 10^{-07}$	$2,24 \times 10^{-07}$	-27,83
200	20,0	2	$2,88 \times 10^{-07}$	$3,48 \times 10^{-07}$	-20,90
300	20,0	2	$1,34 \times 10^{-07}$	$1,28 \times 10^{-07}$	4,30
100	20,0	4	$7,23 \times 10^{-08}$	$6,06 \times 10^{-08}$	16,16
100	12,5	4	$1,10 \times 10^{-07}$	$1,58 \times 10^{-07}$	-43,89

A diferença em termos percentuais apoia o que foi concluído anteriormente. Os valores dos coeficientes de difusão, tanto para o sal como para a água, obtidos mediante o modelo linear e não-linear à pressão atmosférica têm uma diferença baixa (entre 0,3% e 15%), devido à difusão ser mais lenta, permitindo ter mais pontos experimentais no início do processo de demolha.

Sob pressão, a diferença em termos percentuais entre os dois modelos aumenta (4 a 44%). No modelo linear, também os valores dos coeficientes de difusão obtidos, são determinados na zona em que se dá mais rapidamente a difusão, e dada a escassez de pontos experimentais nessa zona, os valores obtidos têm um erro associado mais elevado.

Parte IV. Conclusão

Com o objectivo de tornar mais rápida a análise do conteúdo de NaCl das amostras de bacalhau, usou-se inicialmente um método de quantificação de NaCl medindo a condutividade da solução, concluindo-se que na gama de 0,5 a 5% era possível quantificar o conteúdo de NaCl de soluções padrão de NaCl. Porém ao analisar o conteúdo de NaCl em amostras de bacalhau, verificou-se que a correlação entre os dois métodos (químico e condutivimétrico) era baixa. A razão para estes resultados poderá ser a presença de outros iões, que poderá contribuir para uma quantificação superior do conteúdo de NaCl. Além disso, após filtrar as amostras, observavam-se fibras insolúveis, que poderiam interferir com os eléctrodos do condutivímetro, afectando assim os resultados. A quantificação de NaCl por condutividade foi então usada de modo qualitativo, com o intuito de registar o tempo que a demolha demorava a atingir o equilíbrio.

Avaliou-se à pressão atmosférica, o efeito da temperatura na velocidade de demolha e no conteúdo de água e sal difundidos. Nas temperaturas estudadas, 4,0, 12,5 e 20,0 °C ($\alpha=4$), observou-se que o equilíbrio da água difundida se atingia aproximadamente de 11 a 13h e o equilíbrio do NaCl difundido em aproximadamente 8 horas. A gama dos valores dos coeficientes de difusão foi $7,58 \times 10^{-10}$ a $22,0 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ e $6,92 \times 10^{-10}$ a $10,8 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, respectivamente, para o sal e para a água. O efeito da temperatura parece ser menor que o efeito do conteúdo inicial de sal e água.

Estudou-se o processo de demolha a diferentes pressões (50, 100, 200 e 300 MPa), com o factor α igual a 2. Sob pressão, em alguns minutos, atingiu-se o equilíbrio osmótico, tendo o coeficiente de difusão aumentado para o melhor caso (200 MPa), 497 vezes para a água e 165 vezes para o NaCl. Até 200 MPa, os coeficientes de difusão aumentam linearmente com a pressão aplicada, sendo este fenómeno importante já que se pode prever nesta gama e nestas condições os coeficientes de difusão a uma dada pressão. No entanto, apesar da difusão ter sido muito mais rápida, apenas se difundiu 47-72% do NaCl e 37 a 47% da água, quando comparado com a pressão atmosférica.

Avaliou-se também o efeito do parâmetro α , realizando a demolha à pressão atmosférica. Concluiu-se que o equilíbrio da difusão, se atingiu mais rápido para a menor relação volume de água de demolha/volume de amostra. Também, se difundiu apenas 55%

Parte IV. Conclusão

do sal (m/m) quando comparado com $\alpha=4$. A água também se difundiu 28% (m/m) para $\alpha=2$.

Analisando o efeito do parâmetro α a 100 MPa, concluiu-se que valores de α superiores levam a um maior conteúdo de NaCl e H₂O difundidos. Porém, um conteúdo sempre inferior ao conteúdo difundido à pressão atmosférica.

Também se investigou o efeito da temperatura sob pressão na demolha de bacalhau e concluiu-se que entre 12,5 e 20,0 °C não havia diferenças acentuadas na velocidade da demolha, porém o conteúdo difundido de NaCl e H₂O foi superior a 20,0 °C.

Nas experiências sob pressão, uma diferença fundamental, relativamente à demolha à pressão atmosférica, foi o facto de o estado de equilíbrio ser atingido com uma quantidade maior de sal e menor de água no bacalhau. A hipótese que pode explicar esta situação, é que a compressão da água de demolha que ocorre sob pressão, leva à concentração da água de demolha e aumento da sua pressão osmótica, pelo qual o equilíbrio se atingirá com um conteúdo em sal maior no bacalhau. Para testar esta hipótese, pressurizaram-se amostras a 100 MPa e de seguida, deixaram-se a demolhar à pressão atmosférica (com a mesma água de demolha) durante mais 6 horas. Concluiu-se que ao deixar as amostras a demolhar mais 6 horas à pressão atmosférica, estas atingiram um novo estado de equilíbrio osmótico, equilíbrio idêntico ao da pressão atmosférica nesse tempo de demolha. Estes resultados suportam a hipótese fundamentada.

Bibliografia

1. Plano estratégico nacional para a pesca 2007-20013, by Direcção Geral das Pescas e Aquicultura - Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Lisboa (2006).
2. Lauritzsen K., Quality of salted cod (*Gadus morhua* L.) as influenced by raw material and salt composition, in Norwegian College of Fishery Science. University of Tromsø, Tromsø (2004).
3. Froese R. and Pauly D., <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?id=69>, in FishBase. Accessed 4th october (2009).
4. Rosenlund G. and Skretting M., Worldwide status and perspective on gadoid culture. ICES Journal of Marine Science **63**:194-197 (2006).
5. Hamid L. M., Vaccination of atlantic cod (*Gadus morhua* L.) against atypical furunculosis using different adjuvants, in Norwegian College of Fishery Science. University of Tromsø, Norway, Tromsø (2003).
6. Belitz H. D., Grosch W. and Schieberle P., Fish, Whales, Crustaceans, Mollusks, in Food Chemistry. Springer Berlin Heidelberg, 619-639 (2004).
7. Hernández-Herrero M. M., Duflos G., Malle P. and Bouquelet S., Collagenase activity and protein hydrolysis as related to spoilage of iced cod (*Gadus morhua*). Food Research International **36**:141-147 (2003).
8. Sierra S., Lara-Villoslada F., Comalada M., Olivares M. and Xaus J., Dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid equally incorporate as decosahexaenoic acid but differ in inflammatory effects. Nutrition **24**:245-254 (2008).
9. Andrés A., Rodríguez-Barona S., Barat J. M. and Fito P., Application of Vacuum Impregnation Technology to Salting and Desalting Cod (*Gadus morhua*), in Osmotic dehydration & vacuum impregnation: Applications in Food Industries. Technomic Publishing Company, 185-192 (2001).
10. Erikson U., Veliyulin E., Singstad T. E. and Aursand M., Salting and desalting of fresh and frozen-thawed cod (*Gadus morhua*) fillets: A comparative study using Na-23 NMR, Na-23 MRI, low-field H-1 NMR, and physicochemical analytical methods. Journal of Food Science **69**:107-114 (2004).
11. Lauritzsen K., Akse L., Gundersen B. and Olsen R. L., Effects of calcium, magnesium and pH during salt curing of cod *Gadus morhua* L. Journal of the Science of Food and Agriculture **84**:683-692 (2004).
12. Fernandez-Segovia I., Escriche I., Gomez-Sintes M., Fuentes A. and Serra J. A., Influence of different preservation treatments on the volatile fraction of desalted cod. Food Chemistry **98**:473-482 (2006).
13. Martínez-Alvarez O. and Gómez-Guillén M. C., The effect of brine composition and pH on the yield and nature of water-soluble proteins extractable from brined muscle of cod (*Gadus morhua*). Food Chemistry **92**:71-77 (2005).
14. Wood F. W., The diffusion of salt in pork muscle and fat tissue. Journal of the Science of Food and Agriculture **17**:138-140 (1966).
15. Rafael A B., John H L. and George M P., Improved Histological Procedure for Microscopic Demonstration of Related Changes in Fish Muscle Tissue Structure During Holding and Freezing. Journal of Food Science **46**:733-737 (1981).

Bibliografia

16. Wilding P., Hedges N. and Lillford P. J., Salt-induced swelling of meat: The effect of storage time, pH, ion-type and concentration. *Meat Science* **18**:55-75 (1986).
17. Farouk M. M. and Swan J. E., Effect of pH at Time of Salting on the Functional Properties of Pre-rigor Beef. *Meat Science* **45**:463-472 (1997).
18. Siegfried B., Richard A S., Robert H D., Ken A B. and Ronald A E., Salting behavior of yellowtail (*Trachurus mcullochi nichols*). *Journal of Food Processing and Preservation* **15**:101-114 (1991).
19. Lauritzsen K., Akse L., Johansen A., Joensen S., Sorensen N. K. and Olsen R. L., Physical and quality attributes of salted cod (*Gadus morhua* L.) as affected by the state of rigor and freezing prior to salting. *Food Research International* **37**:677-688 (2004).
20. Barat J. M., Gallart-Jornet L., Andres A., Akse L., Carlehog M. and Skjerdal O. T., Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages. *Journal of Food Engineering* **73**:9-19 (2006).
21. Lauritzsen K., Martinsen G. and Olsen R. L., Copper induced lipid oxidation during salting of cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of Food Lipids* **6**:299-315 (1999).
22. Lauritzsen K., Akse L., Johansen A., Joensen S., Sørensen N. K. and Olsen R. L., Physical and quality attributes of salted cod (*Gadus morhua* L.) as affected by the state of rigor and freezing prior to salting. *Food Research International* **37**:677-688 (2004).
23. Wang D., Tang J. and Correia L. R., Salt diffusivities and salt diffusion in farmed Atlantic salmon muscle as influenced by rigor mortis. *Journal of Food Engineering* **43**:115-123 (2000).
24. Ofstad R., Kidman S., Myklebust R. and Hermansson A. M., Liquid holding capacity and structural changes during heating of fish muscle - cod (*Gadus morhua* L) and salmon (*Salmon salar*). *Food Structure* **12**:163-174 (1993).
25. Ando M., Yoshimoto Y., Inabu K., Nakagawa T. and Makinodan Y., Postmortem change of 3-dimensional struture of collagen fibrillar network in fish muscle pericellular connective tissues corresponding to postmortem tenderization. *Fisheries Science* **61**:327-330 (1995).
26. Stoknes I. S., Walde P. M. and Synnes M., Proteolytic activity in cod (*Gadus morhua*) muscle during salt curing. *Food Research International* **38**:693-699 (2005).
27. Thorarinsdottir K. A., Arason S., Geirsdottir M., Bogason S. G. and Kristbergsson K., Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry* **77**:377-385 (2002).
28. Villacís M. F., Rastogi N. K. and Balasubramaniam V. M., Effect of high pressure on moisture and NaCl diffusion into turkey breast. *LWT - Food Science and Technology* **41**:836-844 (2008).
29. Graiver N., Pinotti A., Califano A. and Zaritzky N., Diffusion of sodium chloride in pork tissue. *Journal of Food Engineering* **77**:910-918 (2006).
30. Erikson U., Veliyulin E., Singstad T. E. and Aursand M., Salting and desalting of fresh and frozen-thawed cod (*Gadus morhua*) fillets: A comparative study using Na-23 NMR, Na-23 MRI, low-field H-1 NMR, and physicochemical analytical methods. *Journal of Food Science* **69**:107-114 (2004).

31. Hultmann L., Rora A. M. B., Steinsland I., Skara T. and Rustad T., Proteolytic activity and properties of proteins in smoked salmon (*Salmon salar*) - effects of smoking temperature. Food Chemistry **85**:377-387 (2004).
32. Hultmann L. and Rustad T., Effects of temperature abuse on textural properties and proteolytic activities during post mortem iced storage of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). Food Chemistry **104**:1687-1697 (2007).
33. Fernandez-Segovia I., Camacho M. M., Martinez-Navarrete N., Escriche I. and Chiralt A., Structure and color changes due to thermal treatments in desalted cod. Journal of Food Processing and Preservation **27**:465-474 (2003).
34. Barat J. M., Rodriguez-Barona S., Castello M., Andres A. and Fito P., Cod desalting process as affected by water management. Journal of Food Engineering **61**:353-357 (2004).
35. Barat J. M., Rodriguez-Barona S., Andres A. and Ibanez J. B., Modeling of the cod desalting operation. Journal of Food Science **69**:183-189 (2004).
36. Debnath S., Hemavathy J., Bhat K. K. and Rastogi N. K., Rehydration Characteristics of Osmotic Pretreated and Dried Onion. Food and Bioproducts Processing **82**:304-310 (2004).
37. Crank J., The mathematics of diffusion, by C. Clarendon Press, Oxford, 414 (1979).
38. Henry B. B. and Keith B., Binding of water and electrolytes to proteins. An equilibrium dialysis study. Biopolymers **15**:1573-1583 (1976).
39. Cheftel J. C. and Culioli J., Effects of high pressure on meat: A review. Meat Science **46**:211-236 (1997).
40. Angsupanich K. and Ledward D. A., High pressure treatment effects on cod (*Gadus morhua*) muscle. Food Chemistry **63**:39-50 (1998).
41. Marchal S., Torrent J., Masson P., Kornblatt J. M., Tortora P., Fusi P., Lange R. and Balny C., The powerful high pressure tool for protein conformational studies. Brazilian Journal of Medical and Biological Research **38**:1175-1183 (2005).
42. Cheah P. B. and Ledward D. A., Catalytic mechanism of lipid oxidation following high pressure treatment in pork fat and meat. Journal of Food Science **62**:1135-1141 (1997).
43. Tanaka M., Zhuo X. Y., Nagashima Y. and Taguchi T., Effect of high pressure on the lipid oxidation in sardine meat. Nippon Suisan Gakkaishi **57**:957-963 (1991).
44. Ikeuchi Y., Tanji H., Kim K. and Suzuki A., Mechanism of heat-induced gelation of pressurized actomyosin: pressure-induced changes in actin and myosin in actomyosin. Journal of Agricultural and Food Chemistry **40**:1756-1761 (2002).
45. Angsupanich K., Edde M. and Ledward D. A., Effects of high pressure on the myofibrillar proteins of cod and turkey muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry **47**:92-99 (1999).
46. Gomes M. R. A. and Ledward D. A., Effect of high-pressure treatment on the activity of some polyphenoloxidases. Food Chemistry **56**:1-5 (1996).
47. Jun X., Caffeine extraction from green tea leaves assisted by high pressure processing. Journal of Food Engineering **94**:105-109 (2009).
48. Barat J. M., Chiralt A. and Fito P., Effect of osmotic solution concentration, temperature and vacuum impregnation pretreatment on osmotic dehydration kinetics of apple slices. Food Science and Technology International **7**:451-456 (2001).

Bibliografia

49. Deng Y. and Zhao Y. Y., Effects of pulsed-vacuum and ultrasound on the osmodehydration kinetics and microstructure of apples (Fuji). *Journal of Food Engineering* **85**:84-93 (2008).
50. Chiralt A., Fito P., Barat J. M., Andres A., Gonzalez-Martinez C., Escriche I. and Camacho M. M., Use of vacuum impregnation in food salting process. *Journal of Food Engineering* **49**:141-151 (2001).
51. Ahromrit A., Ledward D. A. and Niranjana K., High pressure induced water uptake characteristics of Thai glutinous rice. *Journal of Food Engineering* **72**:225-233 (2006).
52. Rastogi N. K. and Niranjana K., Enhanced mass transfer during osmotic dehydration of high pressure treated pineapple. *Journal of Food Science* **63**:508-511 (1998).
53. Sopanangkul A., Ledward D. A. and Niranjana K., Mass transfer during sucrose infusion into potatoes under high pressure. *Journal of Food Science* **67**:2217-2220 (2002).
54. Rastogi N. K., Raghavarao K. S. M. S., Niranjana K. and Knorr D., Recent developments in osmotic dehydration: methods to enhance mass transfer. *Trends in Food Science & Technology* **13**:48-59 (2002).
55. Cunniff P., Official methods of analysis of AOAC international, by AOAC International, Gaithersburg (MD) (1998).
56. Haouet M. N., Altissimi M. S., Framboas M. and Galarini R., Validation of the Volhard method for chloride determination in food. *Accreditation and Quality Assurance* **11**:23-28 (2006).
57. Alizadeh E., Chapleau N., de-Lamballerie M. and Le-Bail A., Impact of Freezing Process on Salt Diffusivity of Seafood: Application to Salmon (*Salmon salar*) Using Conventional and Pressure Shift Freezing. *Food and Bioprocess Technology* **2**:257-262 (2009).

Anexos

Número de Fourier

Quando o número de Fourier, F_o , é maior que 0,1, apenas o primeiro termo, $n=1$, das equações 1 a 4 é significativo podendo os termos seguintes ser desprezados. Assume-se isto de modo a poder linearizar as equações 1 e 2. Avaliou-se então para o caso de 200 MPa, 20,0°C, $\alpha=2$ se o número de Fourier era superior a 0,1 para todos os tempos.

Tabela 33 – Valores de Fourier para diferentes tempos de demolha a 200 MPa

Tempo (segundos)	F_{os}	F_{ow}
30	0,57	1,79
60	1,13	3,58
120	2,27	7,16
180	3,40	10,74
300	5,67	17,91
480	9,08	28,65
720	13,62	42,97

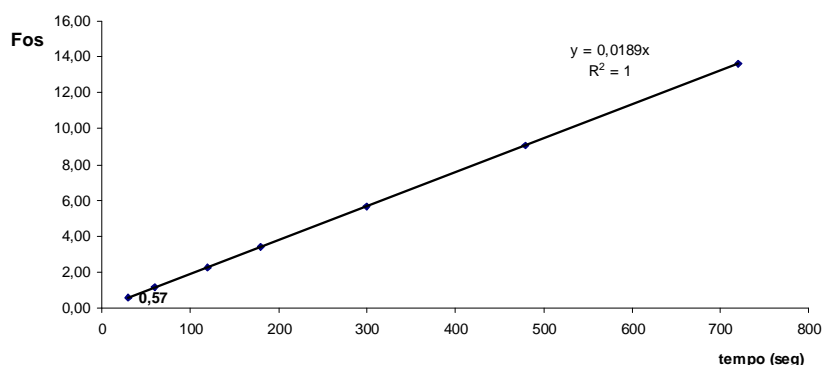


Figura 48 – Número de Fourier para o NaCl em função do tempo de demolha

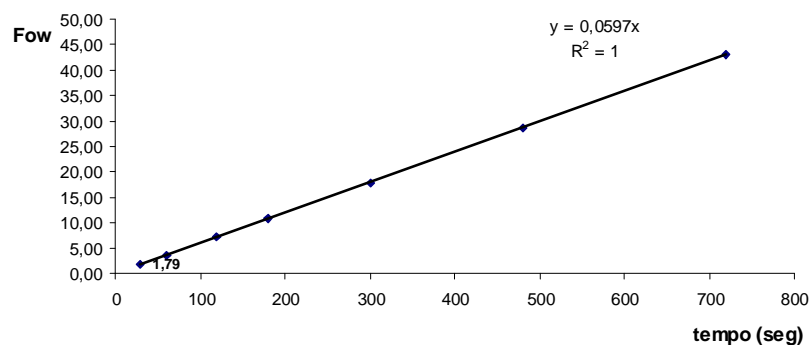


Figura 49 – Número de Fourier para a água em função do tempo de demolha

Anexos

Como se pode observar nos gráficos anteriores, logo para o primeiro tempo (30 segundos), o número de Fourier é superior a 0,1, tanto para o sal como para a água. Pode-se assim negligenciar os termos a partir de $n=1$.

Mediante o clive das rectas (D_e/A^2) é possível determinar o tempo para o qual o número de Fourier é igual a 0,1, ou seja o tempo mínimo de demolha para qual se pode negligenciar os termos a seguir a $n=1$. O tempo mínimo para F_{os} é 5,29 segundos e F_{ow} 1,68 segundos. Conclui-se assim que a aproximação pode ser feita para os tempos de demolha usados neste trabalho.